



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO-PPGBC

**INFLUÊNCIA DA LUZ DA LUA SOBRE À AGREGAÇÃO DE
MACHOS DE *Nyssomya whitmani*, VETOR DA LEISHMANIOSE
CUTÂNEA AMERICANA NO BRASIL**

GILDENE DA SILVA BRITO

SÃO LUÍS/MA

2020

GILDENE DA SILVA BRITO

**INFLUÊNCIA DA LUZ DA LUA SOBRE À AGREGAÇÃO DE
MACHOS DE *Nyssomya whitmani*, VETOR DA LEISHMANIOSE
CUTÂNEA AMERICANA NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação
Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal
do Maranhão como requisito parcial para a obtenção do
título de mestre em Biodiversidade e Conservação

Orientador: Prof. Dr. Francinaldo Soares Silva

SÃO LUÍS/MA

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Silva Brito, Gildene.

INFLUÊNCIA DA LUZ DA LUA SOBRE A AGREGAÇÃO DE MACHOS DE
Nyssomya whitmani, VETOR DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA AMERICANA
NO BRASIL / Gildene Silva Brito. - 2020.

67 f.

Orientador(a): Francinaldo Soares Silva.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Biodiversidade Conservação/ccbs, Universidade Federal do
Maranhão, São Luís, 2020.

1. Comportamento de agregação. 2. Flebotomíneos. 3.
Galinhas. 4. Presença de lua. 5. Vetor. I. Soares
Silva, Francinaldo. II. Título.

GILDENE DA SILVA BRITO

**INFLUÊNCIA DA LUZ DA LUA SOBRE À AGREGAÇÃO DE
MACHOS DE *Nyssomya whitmani*, VETOR DA LEISHMANIOSE
CUTÂNEA AMERICANA NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Maranhão como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Biodiversidade e Conservação

Orientador: Prof. Dr. Francinaldo Soares Silva

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francinaldo Soares Silva (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

1º Examinador Prof. Dr. José Manuel Macário Rebêlo
Universidade Federal do Maranhão

2º Examinador Prof. Dr. Ciro Líbio Caldas dos Santos
Universidade Federal do Maranhão

Inteligência é a habilidade de se adaptar às mudanças.

Stephen Hawkin

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permiti a realização desse estudo.

Eu sou eternamente grata aos meus pais, Valbe Brito e Maria Brito, pelo amor, cuidado e por não medir esforços para que eu pudesse estudar. Sinto orgulho e admiro muito meus pais, que apesar das dificuldades, sempre priorizou os estudos. Agradeço aos meus irmãos Airton Brito, Ailton Brito e Alessandro Brito pelo apoio, dedicação e incentivo.

Sou muito grata ao meu orientador Francinaldo Soares Silva por ter aceitado me orientar, no momento que mais precisava de um apoio e de uma oportunidade para dar continuidade aos meus estudos. Agradeço pela confiança, por estar sempre presente, e pelo incentivo em todas as vezes que o experimento dava algo de errado.

A todos os integrantes do Laboratório de Entomologia médica (LEME) principalmente ao João Vitor por ter me ajudando nas coletas durante todo o meu experimento. A Islana Ponte pelo apoio, ajuda e incentivo durante a jornada de mestrado. Sua amizade me proporcionou ensinamentos importantes que servirão para toda a minha vida. A Maiara de Sousa de Almeida pelo companheirismo e ajuda durante as coletas. A Maria Benedita, Eudimara, Geolane e Genilson pela parceria e ajuda. Todos contribuíram para o desenvolvimento da minha dissertação.

Agradeço ao meu companheiro Romário Matos por sempre me incentivar, pela dedicação e empenho em me ajudar nos momentos que mais precisava.

Aos meus colegas de turma de mestrado que durante esses dois anos convivemos juntos compartilhando nossas experiências e ideias.

Ao senhor Elton por conceder o espaço na sua fazenda para a realização desse estudo.

A UFMA, ao CNPq e a CAPES pelo auxílio concedido para a realização desse mestrado.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	11
1.1 APRESENTAÇÃO.....	12
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1.3 Objetivo Geral.....	21
1.4 Objetivos Específicos.....	21
CAPÍTULO II.....	28
2.1 ARTIGO.....	29
ANEXO.....	48

LISTA DE SIGLA E ABREVIATURAS

CDC	Control disease center
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
KOH	hidróxido de potássio
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
LT	leishmaniose tegumentar
LV	leishmaniose visceral
SEMUS	Secretaria Municipal de Saúde
LEDs	Lights emitting diode
WHO	World Health Organization
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde

RESUMO

A espécie *Nyssomya whitmani* (Antunes & Coutinho) é vetor da leishmaniose tegumentar. Os machos dessa espécie apresentam o comportamento de formar agregações de acasalamento sob ou próximo de hospedeiros. Na literatura, existem poucas informações a respeito, sem falar na influência da luz da lua nesse comportamento. Nesse sentido, para verificar a influência da luz da lua sobre a atividade de agregação dos machos, foram utilizadas gaiolas experimentais, com galinhas e armadilhas de sucção sem luz. No total foram capturados 2160 indivíduos de flebotomíneos distribuídos em 7 espécies, nas 18 noites de coleta na presença e ausência de luz da lua. A espécie mais abundante foi *N. whitmani*, os machos dessa espécie foram mais abundantes na presença de lua (92.67 ± 17.17 /média \pm SE) comparado com as noites de ausência de lua (37 ± 8.168 /média \pm SE) e essa diferença foi estatisticamente significativa ($P= 0.0044$). A proporção de macho: fêmea nas noites de ausência lua foi de 1:1, e nas noites de presença de lua foi de 1,7:1. Diante dos resultados, observa-se que a luz da lua de fato exerceu influência na atividade de agregação dos machos, devido ao aumento da quantidade de flebotomíneos nos hospedeiros.

Palavras chave: flebotomíneos, vetor, comportamento de agregação, presença de lua, galinhas

ABSTRACT

The species *Nyssomya whitmani* (Antunes & Coutinho) is a vector of cutaneous leishmaniasis. Males of this species exhibit the behavior of forming mating aggregations under or near hosts. In the literature, there is little information about this, not to mention the influence of moonlight on this behavior. In this sense, to verify the influence of moonlight on the aggregation activity of males, experimental cages were used, with chickens and suction traps without light. In total, 2160 individuals of sandflies were captured, distributed in 7 species, during the 18 nights of collection in the presence and absence of moonlight. The most abundant species was *N. whitmani*, males of this species were more abundant in the presence of the moon (92.67 ± 17.17 / mean \pm SE) compared to the nights without moon ($37 \pm 8,168$ / mean \pm SE) and this difference was statistically significant ($P = 0.0044$). The male: female ratio on moonless nights was 1: 1, and on moonlit nights it was 1.7: 1. In view of the results, it is observed that the moonlight did in fact influence the aggregation activity of the males, due to the increase in the number of sandflies in the hosts.

Key words: sand flies, aggregation behaviour, presence of moon, chickens.

CAPITULO I

1.1 APRESENTAÇÃO

Os flebotomíneos são pequenos insetos pertencentes à ordem Díptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Esses insetos possuem uma ampla distribuição geográfica, ocorrem em quatro dos cinco continentes, com 989 espécies já descritas. No Brasil já foram registradas 277 espécies em todas as regiões geográficas. Muitas espécies são vetores do protozoário do gênero *Leishmania*, causador das leishmanioses. A leishmaniose é uma doença infecciosa grave que acomete o homem e outros animais.

O Maranhão é o 4º estado do Brasil com maior número de casos de LT (539) e o primeiro em casos reportados de leishmaniose visceral (LV) (1684). No município de Chapadinha/MA, área do presente estudo, encontra-se os principais vetores de leishmaniose *Nyssomia whitmani* e *Lutzomyia longipalpis*. Esses vetores ocorrem tanto em zona urbana quanto rural. O município apresenta áreas de intensa transmissão de leishmanioses.

O ciclo parasitológico da leishmaniose é originalmente silvestre, mas, devido as constantes transformações ambientais, houve uma mudança no padrão de contaminação da doença. As leishmanioses que antes se concentravam no ambiente silvestre, passou a ocorrer em áreas rurais e periféricas de grandes centros urbanos, onde animais domésticos como galinhas, porcos, cães e equinos, atuam como fonte alimentar sanguínea, contribuindo para a colonização e estabelecimento de grandes populações de flebotomíneos.

A espécie *N. whitmani* é vetor da leishmaniose tegumentar (LT), doença não contagiosa, de evolução crônica, que acomete as estruturas da pele e cartilagosas da nasofaringe. No ambiente peridomiciliar, essa espécie possui uma forte associação com galinhas. Nesse sentido o presente estudo levantou a discussão sobre os machos de *N. whitmani* utilizarem as galinhas para realizar o comportamento de agregação para atrair as fêmeas para o acasalamento.

Essa dissertação foi dividida em dois capítulos. O primeiro trata-se do Referencial Teórico que é uma revisão sobre a biologia geral dos flebotomíneos, importância médica, captura dos flebotomíneos, associação dos flebotomíneos com hospedeiros vertebrados e a influência da luz lua e comportamento de agregação.

No segundo capítulo apresenta-se o artigo. O artigo contém dados inéditos sobre o comportamento de agregação de machos da espécie *N. whitmani*. O conhecimento gerado por meio desse estudo é de extrema importância para a elaboração de estratégias que visem o controle. O

manuscrito tem o seguinte título: Influência da luz da lua sobre a agregação de machos de *Nyssomya whitmani*, vetor da leishmaniose cutânea Americana no Brasil, submetido a revista Journal of Medical Entomology, cujas normas de submissão encontram-se anexadas no final deste documento.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

BIOLOGIA GERAL DOS FLEBOTOMÍNEOS

A fauna flebotomínica é amplamente distribuída no mundo. Ocorre em quatro dos cinco continentes, com 989 espécies já descritas, destas 530 foram identificadas nas Américas com mais de 20 espécies vetores comprovados de leishmanioses. No Brasil já foram registradas 277 espécies em todas as regiões geográficas (ALMEIDA et al., 2015).

Os flebotomíneos são pequenos insetos pertencentes à ordem Díptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. São hospedeiros naturais de protozoário do gênero *Leishmania*, agente causador das leishmanioses. Os flebotomíneos também carregam e transmitem outros patógenos zoonóticos, como *Bartonella bacilliformis*, agente causador da bartonelose humana e arbovírus, causando problemas de saúde ao homem e animais (READY, 2013).

Estes dípteros são holometábolos, cujo desenvolvimento tem quatro fases biológicas: ovo, larva (quatro estádios), pupa e adultos. Os estágios imaturos não necessitam de água parada para completar seu desenvolvimento (MAROLI et al., 2013). Os ovos são colocados em diferentes micro-habitats. Por exemplo: solo, cavernas, cupinzeiros, ninhos de aves, tocas de animais, abrigo de animais, serapilheira, base de árvores e sob rochas (FELICIANGELI, 2004; WHO, 2010; CASANOVA et al., 2013). Em ambientes antropizados, podem ser depositados embaixo de armazenagem de água, perto de pocilgas, plantações, rachaduras do solo e de paredes, abrigos de animais domésticos e solo de galpão (FELICIANGELI, 2004; CASANOVA et al., 2013).

As larvas alimentam-se da matéria orgânica depositada no chão, e os adultos alimentam-se de derivados de açúcares (BRAZIL et al., 2015). Os machos se alimentam de seivas de plantas e soluções açucaradas, enquanto as fêmeas, além da dieta rica em carboidratos elas praticam a hematofagia, pois necessitam de sangue para a produção e maturação dos ovos (READY, 2013). A alimentação ocorre principalmente durante o período crepuscular e noturno, e, em geral, estes insetos durante o dia se mantêm em repouso, protegidos do vento, de insolação e de predadores nos abrigos úmidos, tais como: casas, cavernas, fissuras em paredes, em rochas, no solo, buracos em árvores e galinheiros (BRAZIL et al., 2015).

As fêmeas para terem sucesso no repasto sanguíneo utilizam uma gama de receptores que auxiliam na detecção do animal. Estes são: os olhos compostos (FORATTINI, 1973), detector de calor

(BRAZIL, 2003), olfativos e químicos (HAMILTON & RAMSOONDAR, 1994). Os flebotomíneos capturam cairomônios liberados pelos vertebrados por meio dos receptores químicos. Dessa maneira conseguem encontrar a fonte alimentar sanguínea (SCHLEIN & JACOBSON, 2008).

O ciclo parasitológico da leishmaniose é originalmente silvestre, mas atualmente estão correndo em áreas rurais e periféricas de grandes centros urbanos. Essa mudança no padrão de contaminação deve-se as constantes transformações ambientais provocadas pelo homem. Nesse contexto, a construção de casas próximas de florestas e a criação de animais domésticos têm contribuído para a atração de flebotomíneos ao peridomicílio (FERNÁNDEZ et al., 2010; CINCURÁ et al., 2017). Animais domésticos como galinhas, porcos, cães e equinos, atuam como fonte alimentar sanguínea, contribuindo para a colonização e estabelecimento de grandes populações de flebotomíneos (SILVA et al., 2012; CINCURÁ et al., 2017). Estes animais que vivem no ambiente peridomiciliar liberam cairomônios, compostos químicos importantes na orientação de insetos. A comunicação química entre hospedeiro e inseto ocorre por meio dessas substâncias voláteis dispersas no ar, que formam plumas de odores responsáveis pelas respostas olfativas dos insetos (ANDRADE et al., 2014).

De acordo com Harhay et al. 2011, as fontes de alimento e os locais de abrigo e descanso dos flebotomíneos variam de acordo com a presença de animais domésticos e silvestres na área peridomiciliar. É o que acontece com a espécie de *L. longipalpis* em ambientes urbanos na América do sul. Essa espécie é altamente adaptável a locais povoadas por seres humanos (FERNÁNDEZ et al., 2010; ANDRADE et al., 2014).

IMPORTÂNCIA MÉDICA

Os flebotomíneos possuem importância médica, pois são vetores do protozoário *Leishmania* que causa as leishmanioses. Doenças que são negligenciadas e têm se apresentado como um importante problema de saúde pública no mundo. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 350 milhões de pessoas estão expostas as leishmanioses e dois milhões de casos ocorrem todos os anos (BRASIL, 2017). Áreas onde a pobreza é mais acentuada têm mais possibilidade da ocorrência da doença. As condições sanitárias precárias das habitações e do peridomicílio, aumentam os sítios de reprodução e locais de repouso, bem como o acesso dos vetores aos seres humanos (AMÓRA et al., 2009; Opas/OMS, 2019).

Nas Américas, em 2017, foram reportados 49.959 casos de leishmaniose Tegumentar (LT)

por 17 países endêmicos. No geral, houve uma diminuição do número de casos em 9 países endêmicos, porém, o número total de casos manteve-se estável em relação a 2016, devido aos aumentos ocorridos no Brasil (38%), Costa Rica (94%), México (88%) e Equador (36%). Neste mesmo ano foram registrados 4.239 novos casos de leishmaniose Visceral (LV), o que representa um aumento regional de 26,4% quando comparado a 2016, dado ao aumento de 28% dos casos no Brasil. Por outro lado, houve uma diminuição de 21% e 47% no número de casos na Colômbia e Paraguai, respectivamente (Opas/OMS, 2019).

As leishmanioses consistem em um conjunto de doenças causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania* sp, ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. Essas doenças estão entre as principais patologias cujos agentes etiológicos são transmitidos por vetores, e são consideradas um problema de saúde pública devido a sua magnitude, complexidade clínica, biológica e epidemiológica (BRASIL, 2017). As leishmanioses são transmitidas ao homem pela picada da fêmea de flebotomíneos quando infectada. As leishmanioses vêm apresentando diferentes padrões de transmissão, por apresentar uma diversidade de agentes, de reservatórios e de vetores, não mais se restringindo às áreas rurais, ocorrendo também em regiões periurbanas e urbanas (ALMEIDA et al., 2015; VIANNA et al., 2016).

As leishmanioses podem se manifestar nas formas cutânea, mucocutânea (LT) e visceral (LV). A LT é considerada uma zoonose endêmica em mais de 88 países do mundo e segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) há a ocorrência de aproximadamente um milhão de casos de ocorrência em quase todos os países americanos exceto Canadá, Chile e Uruguai (BRASIL, 2017). As principais espécies de flebotomíneos envolvidas na transmissão da LT, no Brasil, são: *N. whitmani*, *L. flaviscutellata*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcomei*, *L. migonei*, *L. complexa*, *L. neivai*, *L. shawi* e *L. ayrozai* (BRAZIL et al., 2015). A LV é a forma mais grave da doença, pois acomete os órgãos internos (fígado e baço). A LV é causada pelo protozoário *Leishmania infantum chagasi*, nas Américas é transmitido principalmente pelas espécies *L. longipalpis* e *L. cruzi*. A espécie *L. longipalpis* possui uma capacidade de adaptação às áreas urbanas, podendo ser encontrado desde o México à Argentina. (BRAZIL et al., 2015).

A espécie *N. whitmani* (Antunes e Coutinho, 1939), pode ser encontrado nos países da Argentina, Brasil, Guiana Francesa, Paraguai e Peru. Nas florestas tropicais as fêmeas desta espécie se alimentam de preguiças (reservatório natural) (LINTHICUM E LINTON, 2015). No ambiente

peridomiciliar essa espécie possui uma forte associação com galinhas. Fonteles et. al. 2009 realizaram estudo no estado do Maranhão para determinar as fontes de alimentação sanguínea das fêmeas da espécie *N. whitmani*, com a utilização de animais, como, galinhas, porcos, gambás, bovinos e seres humanos. As fêmeas foram analisadas utilizando a técnica da precipitina. Tanto nas reações simples como nas reações duplas, as fêmeas tiveram preferência alimentar pelo sangue de galinha. Teodoro et al. (2007) também mostrou a forte associação entre a espécie *N. whitmani* e galinhas.

CAPTURA DOS FLEBOTOMÍNEOS

As armadilhas entomológicas são consideradas ferramentas eficazes nas atividades de estudos de vigilância epidemiológica e na realização do controle de insetos vetores, inclusive dos flebotomíneos (FAIMAN et al., 2011). A captura de insetos auxilia na caracterização das espécies constituintes de um determinado ecossistema além de fornecer subsídios em estudos de monitoramento vetorial.

Para realizar o controle dos vetores é necessário primeiro ter conhecimento sobre a ecologia da espécie. Portanto, são realizadas as investigações entomológicas utilizando diferentes metodologias. Coletas com armadilhas do tipo adesivas, armadilhas Shannon e armadilhas luminosas. Nas armadilhas podem ser utilizados diferentes atrativos físicos e químicos, como animais, CO₂, luz e caïromônios (ALEXANDER e MAROLI, 2003). Alguns compostos químicos são considerados importantes na atração dos flebotomíneos, por exemplo, o dióxido de carbono (CO₂) é interpretado como a presença de hospedeiro e o ácido láctico é o principal componente do suor humano presente em todos os vertebrados (COOPER et al., 2014).

O controle do vetor pode ser uma medida eficiente para o desenvolvimento de ações de prevenção no controle das leishmanioses (MAROLI e KHOURY, 2004). Outras medidas de controle têm surgido como, o uso de mosquiteiros e cortinas impregnados com inseticidas (WARBURG e FAIMAN, 2011). Essa técnica mostrou-se eficaz na proteção de pessoas e em alguns casos reduziu a incidência das leishmanioses (KASILI et al., 2010; MONDAL et al., 2013). Contudo, deve-se levar em consideração a segurança para os seres humanos e o meio ambiente, além do custo do inseticida (WHO, 2010).

ASSOCIAÇÃO DOS FLEBOTOMÍNEOS COM HOSPEDEIROS VERTEBRADOS E A INFLUÊNCIA DA LUZ LUNAR

No processo de hematofagia, as fêmeas de flebotomíneos se alimentam de sangue de répteis, aves e mamíferos. Destes se destacam dois grupos importantes: os sinantrópicos, animais reservatórios naturais de *Leishmania*, que abrange roedores, marsupiais, preguiças e carnívoros. E os domésticos, animais que atraem flebotomíneos para próximo das residências humanas (FAIMAN, 2011).

Ximenes et al. (1999), realizaram estudo para verificar a densidade dos flebotomíneos em abrigos de animais domésticos (cavalos e galinhas) e silvestres (Tatu e uma espécie de roedor *Galeas pixii*), com a utilização de armadilhas luminosas do tipo CDC (Centers for Disease Control and Prevention) para captura dos flebotomíneos. Os resultados desse estudo mostraram que os flebotomíneos foram atraídos pelos animais domésticos e silvestres, pois ao remover os animais do ambiente peridomiciliar ocorreu uma diminuição significativa na densidade dos flebotomíneos.

É de conhecimento que a luz da lua influencia o comportamento de voo de muitos insetos, incluindo os da ordem Díptera (Kasili et al., 2010), como os anofelinos e flebotomíneos. Charlwood et al., (1986) estudaram sobre a idade gonotrófica da espécie *Anopheles farauti* (Culicideos) sob influência da luz da lua, com a utilização de atrativo humano. Os resultados mostraram uma maior captura de anofelinos nas noites com a presença de lua, comparado com as noites na ausência de lua. Jamca et al., (1992) estudou a influência da luz da lua na captura da espécie *Anopheles nuneztovarie* e Kampango et al., (2010) analisou a influência da luz da lua no comportamento de picada da espécie *Anopheles funestus*, ambos utilizaram armadilhas luminosas. Os resultados foram diferentes do estudo anterior, a maior abundância dos anofelinos foi nas noites de ausência de lua comparado com as noites de presença de lua.

Aguiar e Soucasaux 1984, estudaram a ecologia dos flebotomíneos com a utilização de atrativo humano e tubo de sucção para a coleta dos flebotomíneos. Os resultados mostraram que os flebotomíneos foram mais abundantes na fase de lua nova, comparada com as outras fases da lua. Aguiar et al. (1985) encontraram resultados parecidos, observaram uma maior abundância de flebotomíneos na fase de lua nova comparado com as outras fases da lua, nas armadilhas luminosas que estavam próximas de tocas de animais silvestres.

No entanto, Souza et al. (2005), encontraram resultados diferentes. Estudaram sobre a influência do ciclo lunar na frequência de flebotomíneos, com a utilização de atrativo humano e armadilhas

luminosas do tipo CDC. De acordo com os resultados encontraram uma quantidade maior de fêmeas da espécie *N. whitmani* nas noites de lua cheia nas armadilhas que havia isca humana, enquanto nas armadilhas luminosas a maior abundância de fêmeas foi na lua nova. Esse resultado foi mostrado também por Gaglio et al., 2014 para as espécies (*Phlebotomus perniciosus* e *Sergentomyia Minuta*) e Gebresilassie et al., 2015 em estudo da espécie *P. orientalis*. No entanto, Kasili et al., 2010, não encontrou diferenças estatísticas na captura de *Phlebotomus spp.* e *Sergentomya spp.*, nas diferentes fases lunares

Nos estudos de Morrison et al., (1995) e Santo-de-Marco et al., 2002, ambos utilizaram armadilhas luminosas para a captura de flebotomíneos. Capturaram uma quantidade de machos superior à de fêmea, na fase de lua cheia, mas não explicaram a relação com a luz da lua. Morrison et al. 1995 estudaram os padrões de atividade noturna da espécie *L. longipalpis*. A quantidade de flebotomíneos machos foi superior à de fêmeas (15.565 e 3.302, respectivamente). No estudo de Santo-de-Marco et al., 2002, mostra que a média de machos também foi superior à de fêmeas (2,18 e 1,25, respectivamente) para a espécie *N. whitmani*, na fase de lua cheia comparado com outras fases da lua.

Diante desses estudos observamos há necessidade da realização de mais pesquisas, para compreendermos melhor sobre a influência das fases lunares na captura de flebotomíneos com a utilização de armadilhas luminosas e animais. Nesse sentido, a presente pesquisa estudou os machos da espécie *N. whitmani* e a utilização de armadilhas sem a fonte de luz, criadas e confeccionadas exclusivas para este estudo.

COMPORTAMENTO DE AGREGAÇÃO

O comportamento de formar enxames é comum na ordem díptera, muitas espécies se acasalam por meio desse comportamento. O enxame é caracterizado pela aglomeração de macho sem locais específicos (enxame aéreo), frequentemente associados a um marcador de enxame visual (YUVAL, 2006). Esse comportamento foi relatado para espécies, *Anastrepha fraterculus*, *Variipennis sonorensis*, *Anopheles gambiae*, *Anopheles coluzzi*, *Anopheles funestus*, entre outras.

Gerry e Mullens (1998), estudaram o comportamento de reprodução da espécie *Variipennis sonorensis*, observaram que os machos enxamearam próximo de um bezerro contido 0,3-1,0 m acima do nível do solo. Os resultados indicaram que a formação dos enxames está associada a um marcador

de enxame visual com manchas claras e escuras contrastadas horizontalmente, tais como bordas de estradas. Charlwood et al. (2002), verificou que os machos de anofelinos da espécie *Anopheles gambiae* também apresentam essas mesmas características para a formação do enxame. A utilização de marcadores visuais para iniciar o enxame. Os marcadores são de contraste horizontal, como gramas, trilhas ou arbustos. Os machos chegaram primeiro do que as fêmeas e após 5 minutos o enxame teve seu número máximo. As espécies de *Anopheles funestus* (Charlwood e Thompson 2003); *Anastrepha fraterculus* (Segura et al., 2007); *Anopheles gambiae* (Diabaté et al., 2011) e *Anopheles coluzzi* (Sawadogo et al., 2014) também apresentam esse tipo de comportamento.

Os flebotomíneos diferente da maioria dos Díptera citados acima, formam agregações baseado em substrato (YUVAL, 2006). As agregações são formadas próximo ou sobre os hospedeiros com o propósito de acasalamento (Bray et al., 2009). Jarvis e Rutledge 1992, utilizaram camundongos anestesiados para estudar o comportamento de acasalamento da espécie *L. longipalpis*, em laboratório. Observaram que os machos de *L. longipalpis* pousaram em cima dos camundongos e fizeram exhibições semelhantes à lek, como abanar as asas, desfilas e quando necessário defendem o território. O comportamento de lek consiste na formação de agregações, em que os machos realizam exhibições competitivas para atrair as fêmeas para copulação, cada macho defende o espaço no qual está se exibindo para fêmeas (BEEHLER e FOSTER 1988; BRADBURY et al., 1981).

Esse comportamento de lek não é desenvolvido por todas as espécies que formam agregações, como foi mostrado para a espécie *L. Longipalpis* (JARVIS e RUTLEDGE 1992). Por exemplo, os machos da espécie *Phlebotomus papatasi* vetor da leishmaniose cutânea zoonótica, flexionam o abdômen e batem as asas, as fêmeas em resposta batem as asas, indicando que aceita acasalar (CHELBI et al., 2012). Valenta et al., (2000), estudaram o comportamento de corte da espécie *Phlebotomus duboscqi* (Neveu-Lemaire) vetor da leishmaniose cutânea zoonótica na região Afrotropical, os machos apresentaram comportamento de abanar as asas e apertar a cintura das fêmeas, mas de acordo com Beehler e Foster 1988; Jiguet & Bretagnolle, 2006; Diabaté et al., 2011, alguns critérios precisam ser atendidos para afirmar que machos de uma determinada espécie apresentam o comportamento de lek. Esses critérios são: aglomeração de machos; não existe cuidado parental; na área de exibição não possui recursos que atraia as fêmeas; defesa da área; as fêmeas escolhem o parceiro para acasalar; estabilidade da localização do lek ao longo do tempo.

O conhecimento sobre aspectos da ecologia e comportamento dos flebotomíneos são necessários e indispensáveis para a elaboração de estratégias que visem o controle. Nesse sentido o presente estudo traz um novo método de captura e conhecimentos inovadores sobre o comportamento de agregação de machos de flebotomíneos da espécie *N. whitmani* importante vetor da leishmaniose tegumentar.

1.3 Objetivo Geral

Verificar a influência da luz da lua sobre o comportamento de agregação dos machos da espécie *Ny. whitmani* na atividade de busca por hospedeiro, utilizando galinhas em gaiolas experimentais.

1.4 Objetivo Específicos

Conhecer a influência da presença e ausência de lua no processo de agregação dos machos da espécie *N. whitmani*;

Identificar a interação entre machos e fêmeas de flebotomíneos sob influência da luz da lua.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, G.M., SOUCASAUX, T. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. IV. Frequência mensal em isca humana (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Memória Instituto Oswaldo Cruz** 80: 465-482, 1984.

AGUIAR, G.M., VILELA, M.L., SCHUBACK, P.D., SOUCASAUX, T., AZEVEDO, A.C.R. Aspectos da ecologia dos flebótomos do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro. IV. Frequência mensal em armadilhas luminosas (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Memória Instituto Oswaldo Cruz** 80: 465-482, 1985.

ALEXANDER, B., M. MAROLI. Control of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**. 17: 1–18, 2003.

ALMEIDA, P.S., ANDRADE, A.J., SCIAMARELLI, A., RAIZER, J., MENEGATTI, J. A., HERMES, S.C.N. M., CARVALHO, M. S. L., GONÇALVES, R. G. Geographic Distribution Of Phlebotomine Sandfly Species (Diptera: Psychodidae) In Central-West Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**; 110: 551-559. 2015.

AMÓRA, S. S. A., BEVILAQUA, C. M. L., FEIJÓ, FRANCISCO, M.C., ALVES, N. D., MACIEL, M. V. Control of Phlebotomine (Diptera: Psychodidae) Leishmaniasis Vectors. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 3, p. 303–310, 2009.

ANDRADE, A. R. O., SILVA, B. A. K., CRISTALDO, G., ANDRADE, S. M.O., FILHO, A. C. P., RIBEIRO, A., SANTOS, M. F. C., ANDREOTTI, R. Spatial distribution and environmental factors associated to phlebotomine fauna in a border area of transmission of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 7, n.260, p. 1-7, 2014.

BEEHLER, B. M., FOSTER, M. S. Hotshots, hotspots, and female preference in the organization of lek mating systems. **The American Naturalist**, vol. 131, n. 2, 1988.

Bradbury, J. W. The evolution of leks. in R. D. Alexander and D. W. Tinkle, eds. Natural selection and social behavior: research and new theory. Chiron Press, New York, 138-169, 1981.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose Visceral. Disponível em <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/leishmaniose-visceral-lv> (Acessado em 18 de Agosto de 2017).

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In E. F RANGEL, R. LAINSON, (eds.), Flebotomíneos do Brasil, **Fiocruz, Rio de Janeiro**, p. 257-274. 2003.

BRAZIL, R. P., RODRIGUES, A. A. F., ANDRADE, F. J. D. Sand fly vectors of Leishmania in the Americas – a mini review. **Entomology Ornithology Herpetology**; 4: 2-4. 2015.

CASANOVA, C., ANDRIGHETTI, M.T.M., SAMPAIO, S.M.P., MARCORIS, M.L.G., COLLA-JACQUES, F.E., PRADO, Â.P. Larval breeding sites of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in visceral leishmaniasis endemic urban areas in Southeastern Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. 7: 1-9, 2013.

COOPER, R. D, FRANCES, S. P, POPAT, S., WATERSON, D.G.E. The effectiveness of light, 1-octen-3-ol and carbon dioxide as attractants for *Anophele* mosquitoes in Madang Province, Papua New Guinea. **Journal of the American Mosquito Control association**, 20: 239-242. 2004.

CHARLWOOD, O., PARU, R., DAGORO, H., LAGOG, M. Influence of moonlight and gonotrophic age on biting activity of *Anopheles farauti* (Diptera: Culicidae). From Papua New Guinea. **Journal Medical Entomology**. 23: 132-135, 1986.

CHARLWOOD J. D., PINTO J., SOUSA, C. A, MADSEN, H., FERREIRA, C., D. O ROSÁRIO, V. E. O comportamento de enxame e acasalamento de *Anopheles gambiae* ss (Diptera: Culicidae) da Ilha de São Tomé. **Journal Vector Ecology**. 27:178-183, 2002.

CHARLWOOD, J. D., THOMPSON, R., MADSEN, H. Observations on the swarming and mating behaviour of *Anopheles funestus* from southern Mozambique. **Malaria Journal**, v. 2, n. 2, 2003.

CINCURÁ, C., LIMA, C.M.F., MACHADO, P. R. L., OLIVEIRA-FILHO, J., GLESBY, M. J., LESSA, MARCUS M. CARVALHO, EDGAR M. Mucosal leishmaniasis: A Retrospective Study

of 327 Cases from an Endemic Area of *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, pp. 761–766, 2017.

FAIMAN, R., CUNO, R., WARBURG, A. Comparative efficacy of three suction traps for collecting phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in open habitats. **Journal of Vector Ecology**; 34:114-118. 2009.

FELICIANGELI, M. D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 1, p. 71–80, 2004.

FERNÁNDEZ, M. S. et al. *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental. **Acta Tropica**, v. 114, p. 81-87, 2010.

FONTELES, R.S., VASCONCELOS, G.C., AZEVÊDO, P.C.B., LOPES, G.N., MORAES, J.L.P., LOROSA, E.S., KUPPINGER, O., REBÊLO, J.M.M. Preferência alimentar sanguínea de *Lutzomyia whitmani* (Diptera, Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose cutânea americana, no Estado do Maranhão, Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 42, 647-650, 2009.

FORATTINI, O. P. Entomologia Médica. Ed. Edgard Blucher Ltda. São Paulo. vol. 4, 658p, 1973.

GAGLIO, G., BRIANTI, E., NAPOLI, E., FALSONE, L., DANTAS-TORRES, F., TARALLO, V.D., OTRANTO, D., GIANNETTO, S. Effect of night time-intervals, height of traps and lunar phases on sand fly collection in a highly endemic area for canine leishmaniasis. **Acta Tropica**. 133:73-7, 2014.

HAMILTON, J. G.; RAMSOONDAR, T. M. Attraction of *Lutzomyia longipalpis* to human skin odours. **Medical and veterinary entomology**, v. 8, n. 4, p. 375–80, 1994.

HARHAY, M.O., OLLIARO, P. L., LAMOUNIER, C., D. NERY, C. A, CARLOS H. Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. **Trends In Parasitology**. 9, .403-409, 2011.

JARVIS, E., RUTLEDGE, L. Laboratory observations on mating and leklike aggregations in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, 29, 171-177, 1992.

JIGUET, F., BRETAGNOLLE, V. Manipulando tamanho e composição de lek usando chamarizes: uma investigação experimental de modelos de evolução de lek. **Naturalista americano**. 168: 758–768, 2006

KAMPANGO, A., CUAMBA, N., CHARLWOOD, J. D. Does moonlight influence the biting behaviour of *Anopheles funestus*? **Entomologia Médica e Veterinária**, 25 (3), 240-246, 2010.

KASILI, S., NGUMBI, P. M., KOKA, H., NGERE, F.G., KIOKO, E., ODEMBA, N., KUTIMA, H. L. Comparative performance of light trap types, lunar influence and sandfly abundance in Baringo district, Kenya. **Journal vector Borne Diseases** 47, pp.108-112, 2010.

MAROLI, M.; KHOURY, C. Prevention and control of leishmaniasis vectors: current approaches. **Parassitologia**, v. 46, n. 1-2, p. 211-215, 2004.

MAROLI, M., FELICIANGELI, M. D., BICHAUD, L., CHARREL, R. N., GRANDONI, L. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. **Medical and Veterinary Entomology**, 27: 123-147, 2013.

MONDAL, D., HUDA, M. M., KARMOKER, M. K., GHOSH, D., MATLASHEWSKI, G., NABI, S.G., KRORGE, A. Reducing visceral leishmaniasis by insecticide impregnation of bed nets, Bangladesh. **Emerging infectious diseases**, v. 19, n. 7, p. 1131–4, 2013.

MORRISON, A.C., FERRO, C., PARDO, R., TORRES, M., WILSON, M.L., TESH, R.B. Nocturnal activity patterns of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. **Journal of Medical Entomology**, 32, 605-617, 1995.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas: Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; Acesso em: 31 de Outubro de 2019. Disponível em: www.paho.org/leishmaniasis.

READY, P. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annual Review Entomology**. 58: 227-250, 2013.

RUBIO-PALIS, Y. Influence of moonlight on light trap catches of the malaria vector *Anopheles nuneztovari* in Venezuela. **Journal of America Mosquito Control Association**, 8, 178–180, 1992.

SANTOS-DE-MARCO, T.M., GAIA, C.M., BRAZIL, R.P. Influence of the lunar cycle on the activity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). **Journal of the American Mosquito Control Association**, 18, 114-118, 2002.

SAWADOGO, P. S., NAMOUNTOUGOU, M., TOÉ, K. H., ROUAMBA, J., MAÏGA, H., OUÉDRAOGO, K. R., BALDET, T., GOUAGNA, L. C., KENGNE, P., SIMARD, F., COSTANTINI, C., GIBSON, G., DIABATÉ, A., LEES, R.S., GILLES, J.R., DABIRÉ, K. R. Swarming behaviour in natural populations of *Anopheles gambiae* and *An. coluzzii*: review of 4 years survey in rural areas of sympatry, Burkina Faso (West Africa). **Acta Tropica**. 132 42-52, 2014.

SCHLEIN, Y.; JACOBSON, R. L. High nocturnal CO₂ emanation guides the sand fly *Phlebotomus papatasi* to sugar-rich plants. **Physiological Entomology**, v. 33, n. 4, p. 353–359, 2008.

SEGURA, D., PETIT-MARTY, N., SCIURANO, R., VERA, T., CALCAGNO, G., ALLINGHI, A., CENDRA, P. G., CLADERA, J., VILARDE, J. Lekking behavior of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: tephritidae). **Florida Entomological Society**, 154-162, 2007.

SILVA, F. S., CARVALHO, L. P. C., SOUZA, J. M. Flebotomíneos (Díptera: Psychodidae) associados a abrigos de animais domésticos em área rural do Nordeste Estado do Maranhão, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 41 (3): 337-347, 2012.

SOUZA, N. A., ANDRADE-COELHO, C. A., V. C. SILVA, A. A. PEIXOTO, RANGEL, E. F. Moonlight and blood-feeding behaviour of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. **Memória Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100(1): 39-42, 2005.

TEODORO, U., LONARDONI, M. V. C., SILVEIRA, T. G. V., DIAS, A. C., ABBASI, M., ALBERTONI, D., SANTOS, D. R. Light and heat as attraction factors of *Nyssomyia whitmani* in a rural area, Southern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 3, p. 383–388, 2007.

VALENTA D, KILLICK-KENDRICK R, KILLICK-KENDRICK M. Cortejo e acasalamento pela mosca da areia *Phlebotomus duboscqi*, um vetor de leishmaniose cutânea zoonótica na região Afrotropical. **Medical and Veterinary Entomology**, 14: 207-212, 2000.

VIANNA, E.N., MORAIS, M. H.F., ALMEIDA, A.S., SABROZA, P.C., REIS, I. A., DIAS E.S., CARNEIRO, M. Abundance of *Lutzomyia longipalpis* in urban households as risk factor of transmission of visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**; 111: 302-310. 2016.

WARBURG, A.; FAIMAN, R. Research priorities for the control of phlebotomine sand flies. **Journal of Vector Ecology**, v. 36, n. March, p. 10–16, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Control of the leishmaniasis. World Health Organization technical report series, n. 949, p. xii, 2010.

XIMENES, M.F.F.M., SOUZA, M.F., CASTELLÓN, E. G. Density of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in Domestic and Wild Animal Shelters in an Area of Visceral Leishmaniasis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Memória Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 94(4): 427-432, 1999.

YUVAL, B. Mating systems of blood-feeding flies. **Annual Review Entomology**. 51:413-440, 2006.

CAPÍTULO II

Brito et al.: Agregação de Machos de
Nyssomya whitmani

Journal of Medical Entomology

Short Communication

Laboratório de Entomologia médica,
Centro de Ciências Agrárias e Ambientais,
Universidade Federal do Maranhão,
Chapadinha, MA, 65500-000, Brazil.
Fone: +559832729937. E-mail:
Francinaldo.silva@ufma.br

Influência da luz da lua sobre à agregação de machos de *Nyssomya whitmani*, vetor da leishmaniose cutânea Americana no Brasil

Gildene Silva Brito,^{1,2} João Vitor Castro Aguiar¹, Mayara de Sousa de Almeida,¹ Islana Silva Ponte,¹ Benedita Maria Costa Neta^{1,3}, Francinaldo Soares Silva^{1,2,3,4,5}

1 Laboratório de Entomologia médica, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal do Maranhão, CEP: 65500-00, Chapadinha, MA, Brasil.

2 Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal do Maranhão, CEP: 65080-805. São Luís, MA, Brasil.

3 Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, CEP: 65080-805. São Luís, MA, Brasil.

4 Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal do Maranhão, CEP: 65500-00, Chapadinha, MA, Brasil.

5 Corresponding autor, e-mail: francinaldo.silva@ufma.br

1 **Resumo:** A espécie *Nyssomya whitmani* (Antunes & Coutinho) é vetor da leishmaniose
2 tegumentar. Os machos dessa espécie apresentam o comportamento de formar agregações de
3 acasalamento sob ou próximo de hospedeiros. Na literatura, existem poucas informações a respeito,
4 sem falar na influência da luz da lua nesse comportamento. Nesse sentido, para verificar a
5 influência da luz da lua sobre a atividade de agregação dos machos, foram utilizadas gaiolas
6 experimentais, com galinhas e armadilhas de sucção sem luz. No total foram capturados 2160
7 indivíduos de flebotomíneos distribuídos em 7 espécies, nas 18 noites de coleta na presença e
8 ausência de luz da lua. A espécie mais abundante foi *N. whitmani*, os machos dessa espécie foram
9 mais abundantes na presença de lua (92.67 ± 17.17 /média \pm SE) comparado com as noites de
10 ausência de lua (37 ± 8.168 /média \pm SE) e essa diferença foi estatisticamente significativa ($P=$
11 0.0044). A proporção de macho: fêmea nas noites de ausência lua foi de 1:1, e nas noites de
12 presença de lua foi de 1,7:1. Diante dos resultados, observa-se que a luz da lua de fato exerceu
13 influência na atividade de agregação dos machos, devido ao aumento da quantidade de
14 flebotomíneos nos hospedeiros.

15

16

17 **Palavras chave:** flebotomíneos, comportamento, presença de lua, galinhas

18

19

20 Os flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) possuem importância médico-veterinária. Muitas espécies
21 são vetores do protozoário do gênero *Leishmania*, causador das leishmanioses. A leishmaniose é uma

22 doença infecciosa grave que acomete o homem e outros animais. Dessa maneira, apresenta-se como
23 um grande problema para a saúde pública (Ready 2013).

24 A espécie *N. whitmani* é vetora da leishmaniose tegumentar (LT), doença não contagiosa, de
25 evolução crônica, que acomete as estruturas da pele e cartilaginosas da nasofaringe (Guimarães et al.
26 2014). Essa espécie é responsável pela transmissão do complexo *Leishmania (Viannia) braziliensis*,
27 e também tem sido implicada na transmissão de *Leishmania guyanensis* e *Leishmania shawi* no Brasil
28 (Brazil et al. 2015). Nas Américas, em 2017, foram reportados 49.959 casos de LT por 17 países
29 endêmicos. Brasil, Costa Rica, México e Equador, foram os países que tiveram um aumento no
30 número de casos em relação ao ano de 2016. Desse total de casos, 72,6% foram reportados pelo Brasil
31 (Opas/OMS 2019).

32 De acordo com a Organização Mundial da Saúde o estado do Maranhão é o 4º com maior
33 número de casos de LT (539) e o primeiro em casos reportados de leishmaniose visceral (LV) (1684)
34 no Brasil (Opas/OMS, 2019). No município de Chapadinha/MA, área do presente estudo, encontra-
35 se os principais vetores de leishmaniose *N. whitmani* e *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva). Esses
36 vetores ocorrem tanto em zona urbana quanto rural (Lima-Neto et al. 2017). O município apresenta
37 áreas de intensa transmissão de leishmanioses. Nos dois últimos anos foram notificados 55 casos de
38 LV e 18 casos de LT em Chapadinha (SEMUS/ 2019).

39 O ciclo parasitológico da leishmaniose é originalmente silvestre, mas atualmente está ocorrendo
40 em áreas rurais e periféricas de grandes centros urbanos. Essa mudança no padrão de contaminação
41 deve-se as constantes transformações ambientais em que os animais domésticos como galinhas,
42 porcos, cães e equinos, atuam como fonte alimentar sanguínea, contribuindo para a colonização e
43 estabelecimento de grandes populações de flebotomíneos (Harhay et al. 2011). De acordo com

44 Ximenes et al. (1999) as fontes de alimento e os locais de abrigo e descanso dos flebotomíneos
45 variam de acordo com a presença de animais domésticos e silvestres na área peridomiciliar.

46 Os animais presentes no ambiente peridomiciliar liberam cairomônios que são compostos
47 químicos considerados importantes na orientação dos insetos. Os machos flebotomíneos utilizam essas
48 substâncias para a localização de hospedeiros, onde realizam a atividade de agregação e acasalamento
49 (Spiegel et al. 2016). Essas substâncias exercem influência no comportamento de agregação dos
50 flebotomíneos no ambiente peridomiciliar (Dye et al. 1991, Kelly & Dye 1997). Os machos de
51 flebotomíneos utilizam alguns dos estímulos olfativos (CO₂ octenol (1-octen-3-ol) e ácido lático)
52 derivados do hospedeiro para encontrar locais (hospedeiro) para formar agregações (Andrade et al.
53 2008). Agregação é um comportamento exercido por machos, onde formam um agregado, com o
54 propósito de acasalamento (Bray et al. 2009). Durante esse comportamento há a formação de lek. O
55 comportamento lek é uma agregação de exibição comunitária de machos, onde cada um defende uma
56 área na qual se exibem para atrair fêmeas (Jarvis & Rutledge 1992). Não necessariamente as espécies
57 que desempenham o comportamento de agregação realizam lek.

58 O comportamento de lek foi relatado para a espécie *L. longipalpis*, onde machos possui um
59 feromônio de agregação sexual, que ao formar o agregado libera para atrair fêmeas e também mais
60 machos (Jarvis & Rutledge 1992, Bray et al. 2009). Ao cortejar as fêmeas com o propósito de
61 acasalamento os machos de *L. longipalpis* abanam as asas, desfilam e competem pela defesa do
62 território (Jarvis & Rutledge 1992). O estabelecimento do lek visa atrair fêmeas para acasalar (Kelly &
63 Dye 1997).

64 Sabe-se que a luz da lua exerce influência nas capturas de flebotomíneos com armadilhas
65 luminosas (Bowden 1973). No entanto, apenas o estudo de Da silva et al. (2019) sugeriu que a luz da
66 lua poderia ter influência nas agregações de acasalamento dos machos, ao estudar a influência da luz

67 da lua, com armadilhas luminosas à base de LED (Diodo Emissor de Luz) nas capturas de
68 flebotomíneos. Neste estudo, encontramos diferença significativa entre a quantidade de machos da
69 espécie *N. whitmani* em comparação com as outras espécies capturadas sob a lua cheia.

70 A maioria dos estudos sobre influência da luz da lua nas capturas de flebotomíneos concentrou-
71 se apenas no comportamento das fêmeas, enquanto o comportamento dos machos foi negligenciado
72 (Gebresilassie et al. 2005, Souza et al. 2005, Kasili et al. 2010, Gaglio et al. 2014). Portanto, a presente
73 pesquisa propôs estudar a influência da luz da lua no comportamento de agregação dos machos da
74 espécie *N. whitmani* com a utilização de armadilhas sem luz. Nesse sentido devido a transmissão das
75 leishmanioses depender da relação entre vetor e hospedeiro, fez-se necessário estudos com iscas de
76 animais na presença e ausência de lua para elucidar tais conjecturas e com isso contribuir para a
77 elaboração de novos métodos de captura que visem o controle desse vetor.

78

79 **Material e Métodos**

80

81 O estudo foi desenvolvido em uma fazenda, no município de Chapadinha/MA, localizada a
82 3°44'03,99" Sul e 43°17'16,29" Oeste. A região de Chapadinha possui clima quente e úmido
83 característico do nordeste do estado. A temperatura média varia de 28°C a 30°C. Os índices
84 pluviométricos variam de 1,500-1,800mm. A região apresenta uma estação seca, de julho a dezembro,
85 e uma chuvosa, de janeiro a junho. A área de estudo é caracterizada por uma fitofisionomia do tipo
86 savana, com florestas secundárias e plantio de eucalipto ao redor da área da fazenda. Animais como,
87 porcos, galinhas e boi, estavam presentes nos ambientes peridomiciliar.

88 Com o objetivo de proporcionar uma representação mais fiel sobre a influência da luz da lua nas
89 agregações de machos de *N. whitmani* foi desenvolvida uma nova armadilha de sucção, não atrativa, na
90 qual os insetos presentes no ambiente são atraídos principalmente por estímulos ambientais externos

91 (por exemplo, odores do hospedeiro). Essa armadilha é compreendida por um corpo de formato
92 cilíndrico em forma de “U” com duas extremidades (Fig.1. A). Em uma das extremidades possui um
93 micromotor de 3V DC, RF-300CA, 1.400 rpm com ventilador para sucção dos insetos. A outra
94 extremidade é o reservatório de coleta de insetos. No lado de dentro do reservatório, há um funil de
95 malha fina (malha de 0,20 mm), sobre o qual um tubo transparente é conectado para impedir que os
96 insetos saiam da armadilha.

97 Na realização do experimento foram utilizadas duas gaiolas experimentais (Fig.1.B e C), de
98 tamanhos (100 x 100 x 50 cm), na presença e ausência de lua. Essa gaiola é composta por duas partes:
99 a primeira (superior) era uma grade de madeira com laterais teladas (Fig.1.B), onde as galinhas eram
100 colocadas, e a segunda parte (inferior) possui aberturas em cada lado, na qual as armadilhas de sucção
101 foram dispostas (Fig.1.C) Oito armadilhas de sucção foram colocadas em cada gaiola. O aparelho de
102 sucção ficava para dentro da gaiola e o reservatório ficava fora da gaiola (Fig.1.B). As gaiolas foram
103 instaladas no local de estudo a 50 cm a cima do solo, com 20 m de distância uma da outra, em área aberta a
104 uma distância de 170m do ambiente peridomiciliar. Em cada gaiola foram colocadas 6 galinhas caipiras
105 (*Gallus gallus domesticus* L.), oferecidas como atrativo para os flebotomíneos. As galinhas foram
106 colocadas na gaiola às 17:00 horas e retiradas às 6:00 horas da manhã seguinte.

107 As coletas dos flebotomíneos foram realizadas entre os meses de Julho a Setembro de 2019,
108 durante três dias consecutivos por semana. Cada tratamento foi replicado três vezes, com 9 noites na
109 presença e 9 noites na ausência de lua, no total de 18 noites de coletas, com 16 armadilhas de sucção
110 por noite, resultando em 234 horas de trabalho. Os dados sobre as fases da lua foram obtidos em
111 (<http://www.timeanddate.com>). Todos os experimentos foram realizados em noites sem nuvens e a lua
112 estava sendo observada pela equipe de estudo para ver se estava visível ou não no local do estudo.
113 Dados de umidade, precipitação e temperatura foram obtidos pelo site INMET-Brasil (Instituto
114 Nacional de Meteorologia, <http://inmet.gov.br> –estação: 82382 – Chapadinha, Maranhão).

115 Após cada coleta os flebotomíneos foram transportadas para o laboratório de Entomologia Médica
116 (LEME) do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão (CCAA-
117 UFMA). As galinhas eram removidas das gaiolas e colocadas de volta nos viveiros. Os flebotomíneos
118 foram eutanasiados a -20°C , em seguida foi realizado o processo de triagem, posteriormente os
119 flebotomíneos foram acondicionados em frascos de vidros contendo álcool 70% devidamente
120 etiquetados. Ao término desses procedimentos foi realizado o processo de diafanização, que consiste
121 no clareamento do exoesqueleto dos insetos tornando as partes anatômicas de fácil visualização, para
122 isso foram utilizados dois compostos: lactofenol e hidróxido de potássio (KOH). Em seguida os
123 flebotomíneos foram identificados a nível de espécies por meio da observação de caracteres
124 morfológicos com o auxílio de microscópio óptico, por meio da chave de identificação proposta por
125 Galati (2003), e as amostras foram acondicionadas na coleção entomológica da Universidade Federal
126 do Maranhão (UFMA).

127 As análises estatísticas foram realizadas pelo software GraphPad Prism (GraphPad
128 Software Inc., San Diego, CA, EUA). O teste utilizado para verificar a normalidade dos dados foi
129 D'Agostino & Pearson. Quando os dados seguiram uma distribuição normal, foram realizados os
130 testes t de Student e análise de variância (ANOVA), mas, quando o critério de normalidade não foi
131 atendido utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Os resultados foram considerados
132 significativos quando $P < 0,05$.

133

134

135 **Resultados e Discussão**

136

137 Nas 18 noites de coletas foram capturados 2160 indivíduos de flebotomíneos distribuídos em
138 7 espécies (Tabela 01). As espécies capturadas foram: *N. whitmani* ($92.67 \pm 17.17/\text{média} \pm \text{SE}$),

139 *Psychodopygus chagasi* (Costa Lima) (11.67 ± 5.33 /média \pm SE), *Micropygomyia goiana* (Martins,
140 Falcão & Silva) (4.12 ± 0.66 /média \pm SE), *Micropygomyia quinquefer* (Dyar) (3.16 ± 0.47 /média
141 \pm SE), *Bichromomyia flaviscutellata* (Mangabeira) (1.40 ± 0.22 /média \pm SE), *Evandromyia*
142 *termitophila* (Martins, Falcão & Silva) (1.50 ± 0.50 /média \pm SE) e *Brumptomya* sp. ($1.00 \pm$
143 0.00 /média \pm SE). Estas espécies já foram relatadas anteriormente para a região Nordeste do Brasil
144 (Da Silva *et al.*, 2019). É importante ressaltar a captura da espécie *B. flaviscutellata*, uma espécie
145 de flebotomíneo considerada o principal vetor de *L. (V.) amazonensis* na América do Sul e Central
146 (Brasil *et al.*, 2015).

147 Em relação à espécie *N. whitmani*, os machos foram mais abundantes na presença de lua (92.
148 67 ± 17.17 /média \pm SE) comparado com a de ausência de lua (37 ± 8.168 /média \pm SE). A diferença
149 entre a quantidade de machos na presença e ausência de lua foi significativamente diferente ($t =$
150 2.928 , $df = 16$, $P = 0.0099$). A proporção sexual de macho: fêmea na presença de lua foi de 1,7:1 e
151 na ausência de lua foi de 1:1. A diferença entre os machos na presença de lua (92.67 ± 17.17 /média
152 \pm SE) e fêmea na ausência de lua (36.89 ± 11.25 /média \pm SE) foi estatisticamente significativa (t
153 $= 2.718$, $df = 16$, $P = 0.0152$). As fêmeas foram mais abundantes na presença de lua (53 ± 9.999
154 /média \pm SE) comparado com a de ausência de lua (36.89 ± 11.25 /média \pm SE). No entanto, não
155 houve diferença estatística ($t = 1.070$, $df = 16$, $P = 0.3003$), figura 1. Em relação as outras espécies,
156 houve maior abundancia nas noites de ausência de lua (5.563 ± 2.455 /média \pm SE) quando
157 comparado com as noites de presença de lua (4.938 ± 1.002 /média \pm SE). No entanto, não houve
158 diferença estatística entre a quantidade de flebotomíneos na presença e ausência de lua ($U = 105.5$,
159 $P = 0.4021$).

160 Como sugerido no estudo de Da Silva *et al.* (2019), os resultados do presente estudo mostram
161 que a luz da lua de fato exerce influência na atividade de agregação de machos da espécie *N. whitmani*,
162 devido uma maior abundância de machos em relação a fêmeas, capturados nas noites de presença de

163 lua. Morrison et al. (1995) estudaram os padrões de atividade noturna da espécie *L. longipalpis*, em
164 um chiqueiro de porco e em um curral de gado, por meio de tubos de castro. A quantidade de
165 flebotomíneos machos foi maior do que as fêmeas (15.565 e 3.302, respectivamente). A atividade dos
166 flebotomíneos aumentou na presença de lua. Santo-de-Marco et al. (2002) verificaram a influência
167 das fases lunares na atividade de flebotomíneos em Viçosa Minas Gerais, Brasil. Os flebotomíneos
168 foram capturados com armadilhas luminosas do tipo Falcão e Shannon. As armadilhas foram
169 instaladas próximos de casas, abrigos de animais, bordas de terras e fronteiras florestais. Neste estudo
170 a média de machos também foi maior do que a de fêmeas (2,18 e 1,25, respectivamente) para a espécie
171 *N. whitmani*, na fase de lua cheia comparado com outras fases da lua. Estes estudos apenas citaram a
172 quantidade de machos, mas, não explicaram qualquer relação que poderia existir com a luz da lua.

173 O presente estudo foi o primeiro a levantar a discussão sobre a influência da luz da lua sobre o
174 comportamento agregação dos machos. Infelizmente, existe poucas informações que nos daria suporte
175 para melhor compreender os processos envolvidos no comportamento de agregação dos machos.
176 Kelly & Dye (1997), mostraram que os machos de *L. longipalpis* chegam aos locais de agregações
177 primeiro, assim liberam feromônios para atrair as fêmeas e também mais machos para o processo de
178 acasalamento. Por meio do comportamento de formar agregações no hospedeiro os machos aumentam
179 o sucesso de acasalamento. Portanto, os machos desempenham um papel importante no processo
180 epidemiológico da doença. Para a melhor compreensão desse papel é necessário a realização de mais
181 estudos.

182 Os estudos com flebotomíneos sob influência da luz da lua são voltados para a captura das
183 fêmeas. Dessa maneira, pouco se sabe sobre a atividade crepuscular de machos sob influência
184 lunar. De acordo com Bidlingmayer (1964) a atividade do voo dos mosquitos fêmeas é mais ativo
185 no período crepuscular nas noites de lua cheia. Dessa maneira, acredita-se que com a presença de

186 lua o período crepuscular se estende por mais tempo, e assim ocorre uma maior captura de
187 flebotomíneos nas noites de presença de lua (Bidlingmayer 1964, Bowden 1973). A grande
188 abundância de machos de *N. whitmani* nas noites de presença de lua pode estar relacionado a esse
189 fator. Morrison et al. (1995), mostrou que a atividade de voo dos machos da espécie *L. longipalpis*
190 foi mais ativo do que as fêmeas, logo no início da noite. Argumenta-se a possibilidade dos
191 flebotomíneos utilizarem a visão, sob influência da luz da lua para encontrar o hospedeiro e formar
192 agregações para o acasalamento nas noites de presença de lua, quando o ambiente está mais claro.

193 Além da influência lunar, os hospedeiros domésticos também desempenham importância na
194 atividade de agregação dos machos. Segundo Kelly & Dye (1997), os feromônios liberados pelos
195 machos de flebotomíneos juntamente com os caimônios do hospedeiro exercem um papel
196 importante no comportamento de agregação. Acredita-se, que as galinhas usadas no presente
197 estudo, como atrativo para os flebotomíneos, podem estar sendo utilizadas pelos machos da espécie
198 *N. whitmani*, como locais para a formação de agregações com o propósito de acasalamento.
199 Fonteles et al. (2009); Vilela et al. (2013) demonstraram a forte associação que existe entre a
200 espécie *N. whitmani* e galinhas. Essa associação pode estar relacionada ao processo de
201 domesticação da espécie *N. whitmani*.

202 Em estudos com a espécie *L. longipalpis* importante vetor da leishmaniose visceral na
203 América, foi mostrado que os machos produzem um feromônio sexual de agregação que são
204 importantes para atrair fêmeas e machos para acasalar (Spiegel et al. 2016). A grande abundância
205 de machos da espécie de *N. whitmani* poderia ser explicada também se, assim como *L. longipalpis*
206 produzisse um feromônio específico de agregação sexual. No entanto, na literatura ainda não há
207 informações se os machos da espécie *N. whitmani* produzem algum tipo de feromônio sexual de
208 agregação. Hamilton et al. (2002) estudaram sobre a produção de feromônios sexuais nas espécies
209 de flebotomíneos do novo mundo, mas não encontraram feromônios sexuais em nenhuma das

210 espécies estudadas, incluindo a espécie *N. whitmani*, mas a possibilidade de existir essas
211 substâncias não foi descartada.

212 A parti do conhecimento que *L. longipalpis* produz feromônios sexuais de agregação, foi
213 elaborado uma estratégia de controle. A estratégia consiste em atrair e depois sacrificar o vetor da
214 leishmaniose visceral, por meio da utilização de feromônios sexuais sintético de agregação para
215 locais estratégicos tratados com inseticidas (Courtenay et al. 2019). Embora, não exista na literatura
216 informações sobre a influência da luz da lua sob o processo de agregação da espécie *L. longipalpis*,
217 no presente estudo recomenda-se que o período de presença de lua seja considerado na hora da
218 realização do controle desse importante vetor. Futuramente esta estratégia de controle pode ser
219 aplicada para a espécie *N. whitmani* importante vetor da leishmaniose cutânea para interromper as
220 agregações de acasalamento.

221 A influência da luz da lua e as galinhas foram importantes para a presença da espécie *N.*
222 *whitmani* no local de coleta. A utilização de armadilhas de sucção sem luz, as galinhas e a execução
223 do experimento em área aberta nos forneceram resultados precisos, onde foi constatado a influência
224 da luz da lua na atividade de agregação dos machos de *N. whitmani* nas galinhas. Para a melhor
225 compreensão sobre o comportamento de agregação dos machos no hospedeiro, sugerimos que
226 estudos sejam realizados com outros animais domésticos, considerando a luz da lua.

227

228 **Agradecimentos**

229 Os autores agradecem ao Sr. Elton por permitir a realização das coletas em sua propriedade e toda
230 a equipe do laboratório de Entomologia Médica. G.S. Brito recebeu apoio da CAPES (concessão
231 88882.445739/2019-01).

232 **Referências Citadas**

- 233
- 234 **Aguiar, G.M., Soucasaux, T. (1994).** Aspectos da ecologia dos flebotomíneos do Parque Nacional
235 da serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro. I. Frequência mensal e isca humana (Díptera,
236 Psychodidae, Phlebotominae). Mem. Inst. Oswaldo cruz, 79 (2): 197-209.
- 237 **Andrade, A.J., Andrade, M., Dias E., Pinto, M., Eiras, A.E.E. (2008).** Light traps baited with
238 kairomones effective in the capture of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia intermedia*? An
239 evaluation of synthetic human odor as an attractant for phlebotomine sand flies (Diptera:
240 Psychodidae: Phlebotominae). Mem. do Inst. Oswaldo Cruz, 103, 337-343.
- 241 **Bidlingmayer, W.L. (1964).** The effect of moonlight on the flight activity of mosquitoes. Ecology,
242 45, 87-94.
- 243 **Bowden, J. (1973)** The influence of moonlight on catches of insects in light-traps in Africa. Part
244 I. The moon and moonlight. B. of the Entomol. Research, 63, 113-128.
- 245 **Bray, D. P., Bandi, K. K., Brazil, R. P., Oliveira, A. G., Hamilton, J.G.C. (2009).** Synthetic sex
246 pheromone attracts the leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) to
247 Traps in the Field. J. of Med. Entomology, 46, 428–434.
- 248 **Brazil, R.P., Rodrigues, A.A.F., Andrade, F.J.D. (2015)** Sand fly vectors of Leishmania in the
249 Americas – a mini review. Entomol. Ornithol. Herpetol., 4, 2-4.
- 250 **Courtney, O. Dilger, E., Calvo-Bado, L.A., Kravar-Garde, L., Carter, V., Bell, M.J., Alves,**
251 **G.B., Gonçalves, R., Mahkdoomi, M.M., González, M.A., Nunes, C.M., Bray, D.P.,**
252 **Brazil, R.P., Hamilton, J.G.C. (2019).** Sand fly synthetic sex-aggregation pheromone co-
253 located with insecticide reduces the incidence of infection in the canine reservoir of visceral
254 leishmaniasis: A stratified cluster randomised trial. PLoS Neglected Trop. Disease, 13, e
255 0007767. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007767>.

- 256 **Da Silva, A.A., Costa-Neta, B.M., Silva, F.S. (2019).** Influence of moonlight on Light- Emitting
257 Diode Trap catches of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae). *Entomol. News,*
258 129, accepted.
- 259 **Dye, C.; Davies, C. R.; Lainson, R. (1991).** Communication among phlebotomine sandflies: a
260 field study of domesticated *Lutzomyia longipalpis* populations in Amazonian Brazil. *Anim.*
261 *Behav.*, 42, pp. 183-192.
- 262 **Fonteles, R.S., Vasconcelos, G.C., Azevêdo, P.C.B., Lopes, G.N., Moraes, J. L. P., Lorosa,**
263 **E.S., Kuppinger, O., Rebêlo, J. M. M. (2009).** Preferência alimentar sanguínea de
264 *Lutzomyia whitmani* (Diptera, Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose cutânea
265 americana, no Estado do Maranhão, Brasil. *Rev. Soc. Bras. de Med. Trop.*, 42, 647-650.
- 266 **Galati, E. A. B. (2003).** Morfologia e taxonomia. Morfologia, terminologia de adultos e
267 identificação dos táxons da América. *Flebotomíneos do Brasil*, pp 53-75. FIOCRUZ. Rio de
268 Janeiro.
- 269 **Gaglio, G., Brianti, E., Napoli, E., Falsone, L., Dantas-Torres, F., Tarallo, V.D., Otranto,**
270 **D., Giannetto, S. (2014)** Effect of night time-intervals, height of traps and lunar phases on
271 sand fly collection in a highly endemic area for canine leishmaniasis. *Acta Trop.* 133:73-7.
- 272 **Gebresilassie, A., Yared, S., Aklilu, E., Kirstein, O. D., Moncaz, A., Tekie, H., Balkew, M.,**
273 **Warburg, A., Hailu, A., Gebre-Michael, T. (2015)** The influence of moonlight and lunar
274 periodicity on the efficacy of CDC light trap in sampling *Phlebotomus (Larroussius)*
275 *orientalis* Parrot, 1936 and other *Phlebotomus* sandflies (Diptera: Psychodidae) in Ethiopia.
276 *Parasit. and Vectors*, 8, 106.
- 277 **Guimarães, R. B. B., Casagrande, P. S. S., Matsumoto, M. F., Pedroso (2014).** Estudos
278 Biogeográficos e Saúde Ambiental: a escolha adequada de armadilhas para a captura de

- 279 flebotomíneos. V Congresso Internacional de Geografia da Saúde. Geografia da saúde:
280 ambientes e sujeitos sociais no mundo globalizado. Manaus Amazona, Brasil, ISSN: 1981-
281 8963. <https://doi.org/10.5205/1981-8963-v12i12a238452p3529-3528-2018>.
- 282 **Hamilton, J.G.C., Brazil, R.P., Campbell-Lendrum, D., Davies, C.R., Kelly, D.W., Pessoa,**
283 **F.A.C., Queiroz, R.G. (2002).** Distribution of putative male sex pheromones among
284 *Lutzomyia* sandflies (Diptera: Psychodidae). *Annals of Trop. Med. and Parasitology*, 96, 83-
285 92.
- 286 **Harhay, M.O., Olliaro, P. L., Lamounier, C., D. Nery, C. A, Carlos H. (2011).** Urban
287 parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends In Parasitology*. 9, .403-409.
- 288 **Jarvis, E., Rutledge, L. (1992).** Laboratory observations on mating and leklike aggregations in
289 *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J. of Med. Entomology*, 29, 171-177.
- 290 **Kasili, S., Ngumbi, P.M., Koka, H., Ngere, F.G., Kioko, E., Odemba, N., Kutima, H.L. (2010).**
291 Comparative performance of light trap types, lunar influence and sandfly abundance in
292 Baringo district, Kenya. *J. of Vector Borne Diseases*, 47, 108-112.
- 293 **Kelly, D.W., Dye, C. (1997).** Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the
294 sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Anim. Behav.* 53, 721-731.
- 295 **Lima-Neto, A. R., Costa-Neta, B. M., Da Silva, A. A., Brito, J. M., Silva, F. S, Ponte, I.S.,**
296 **Aguiar, J.V.C. (2017).** The effect of luminous intensity on the attraction of phlebotomine
297 sand flies to light traps. *J. of med. Entomology*, 20, 1- 4.
- 298 **Morrison, A.C., Ferro, C., Pardo, R., Torres, M., Wilson, M.L., Tesh, R.B. (1995).** Nocturnal
299 activity patterns of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of
300 visceral leishmaniasis in Colombia. *J. of Med. Entomology*, 32, 605-617.

- 301 **Organização Pan-Americana da Saúde, (2019).** Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas
302 Américas: Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; Acesso em: 31 de Outubro
303 de 2019. Disponível em: www.paho.org/leishmaniasis.
- 304 **Ready, P. (2013).** Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annu. Rev.*
305 *Entomology*. 58: 227-250.
- 306 **Santos-de-Marco, T.M., Gaia, C.M., Brazil, R.P. (2002).** Influence of the lunar cycle on the
307 activity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *J. Am. Mosq. Control*
308 *Association*, 18, 114-118.
- 309 **SEMUS.** Secretária Municipal de Saúde de Chapadinha/MA, (2019).
- 310 **Souza, N.A., Andrade-Coelho, C.A., Silva, V.C., Peixoto, A.A., Rangel, E.F. (2005).** Moonlight
311 and blood-feeding behaviour of *Lutzomyia intermedia* and *Lutzomyia whitmani* (Diptera:
312 Psychodidae: Phlebotominae) vectors of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. *Mem.*
313 *Inst. Oswaldo Cruz*, 100, 39-42.
- 314 **Spiegel, C.N., Dias, D.B.S., Araki, A.S., Hamilton, J.G.C., Brazil, R.P., Jones, T.M. (2016).**
315 The *Lutzomyia longipalpis* complex: a brief natural history of aggregation-sex pheromone
316 communication. *Parasit. and Vectors*, 9, 580.
- 317 **Teodoro, U., Albertonb, D., Kühn, J.B., Santos, E.S., Santos, D.R., Santos, A.R., Oliveira, O.,**
318 **Silveira, T.G.V., Lonardoni, M.V.C. (2003).** Ecology of *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani*
319 in a urban area in Brazil. *Rev. de Saúde Pública*, 37, (DOI: 10.1590/s0034-
320 89102003000500016).
- 321 **Vilela, M.L., Pita-Pereira, D., Azevedo, C.G., Godoy, R.E., Britto, C., Rangel, E.F. (2013).**
322 The phlebotominae fauna (Diptera: Psychodidae) of Guará, state of Tocantins, with emphasis
323 on the putative vectors of American cutaneous leishmaniasis in rural settlement and periurban
324 areas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 108, 578-585.

- 325 **Ximenes, M.F.F.M., Souza, M.F., Castellón, E. G. (1999).** Density of sand flies (Diptera:
326 Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of visceral leishmaniasis in the
327 state of Rio Grande do Norte, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo cruz, Rio de Janeiro, 94: 427-432

Fig.01 (A)- Armadilha de sucção não atrativa em forma de U (Fig. 1. A1), com um micro motor 3V DC, RF-300CA, 1.400 e um ventilador (Fig. 1. A2). Reservatório removível de coleta de insetos (Fig. 1. A3), tampa do reservatório removível (Fig. 1. A4), com tela (malha 0,20mm). Na parte inferior do reservatório possui um funil de malha 0,20mm, no qual possui um tubo para impedir a saída dos insetos (fig. 1. A5). Quando os insetos são capturados (fig.1. A7), são expelidos pelo ar gerado pelo ventilador para o reservatório (fig.1.A8). **(B)** Gaiola na qual as galinhas e as armadilhas eram dispostas. **(C)** Distribuição das armadilhas na gaiola.

Fig.02 Média (\pm SE) de machos e fêmeas da espécie *N. whitmani* capturados com armadilhas de sucção não atrativa, na presença e ausência de luz da lua. Letras iguais não possui diferença estatística e letras diferentes possui diferença estatística. I- Machos na presença de lua, II- Fêmeas na presença de lua, III- Machos na ausência de lua e IV- fêmeas na ausência de lua.

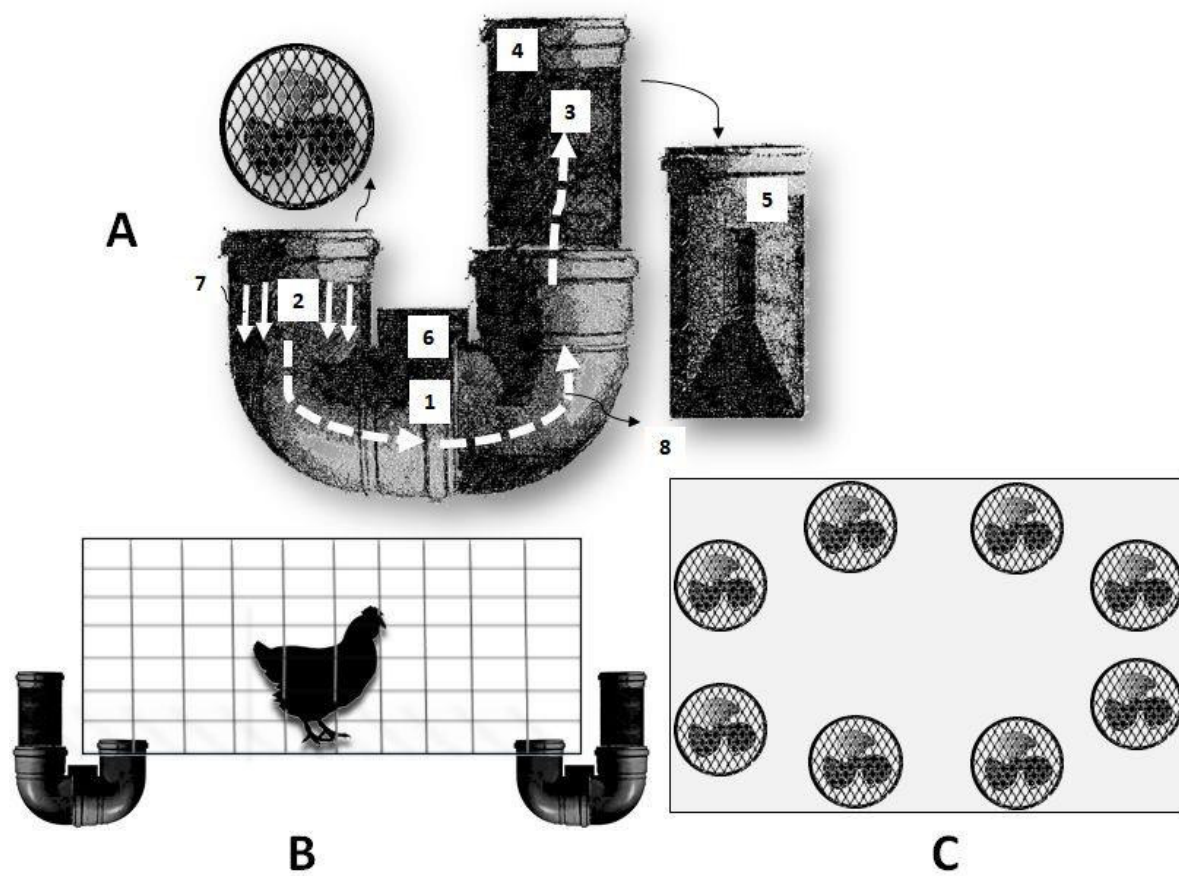


Figura 01.

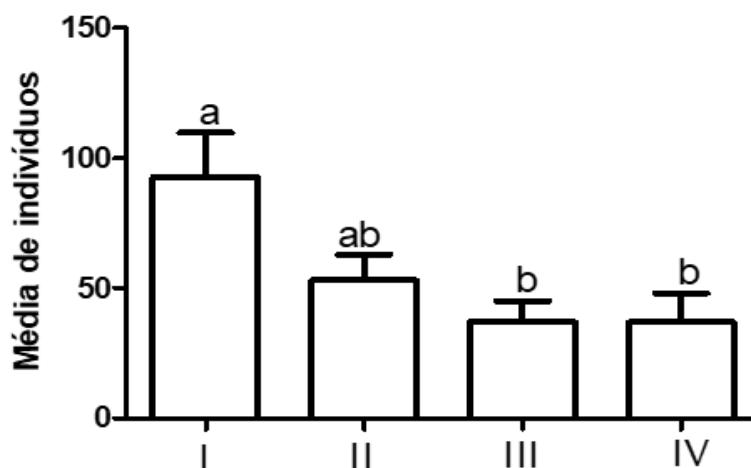


Figura 02.

Tabela 01. Espécies de flebotomíneos capturados em uma fazenda no Nordeste do Brasil com a utilização de armadilhas de sucção não atrativa.

ESPÉCIES	N	M	F	%
<i>Nyssomyia whitmani</i>	1976	1167	809	91,5
<i>Psychodopygus chagasi</i>	70	1	69	3,2
<i>Micropygomyia goiana</i>	66	29	37	3,1
<i>Micropygomyia quinquefer</i>	19	19	0	0,88
<i>Bichromomyia flaviscutellata</i>	14	3	11	0,65
<i>Evandromyia termitophila</i>	3	0	3	0,14
<i>Brumptomya</i> sp	1	0	1	0,05
Danificados	11	4	7	0,51
TOTAL	2160	1223	937	100

N= número total de cada espécie; M=macho; F=fêmea; % = porcentagem.

ANEXOS

NORMAS DA REVISTA JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY

MANUSCRIPT PREPARATION

NEW SUBMISSIONS

Formatting

For new submissions, our formatting requirements are simple—just make sure your paper has the following items:

- Continuous line numbers
- Double-spaced lines
- A title page and abstract in the main document
- A main document in a doc, docx, tex (converted to PDF for review) or rtf file type
- Tables in a Word document (we cannot accept Excel files, unless they are supplementary files)
- Figure and table legends in the main document
- All coauthors entered into the online review system (email addresses required)

Please note there are more formatting guidelines for revised versions, as those are closer to being accepted (see the Revised Versions section of these author instructions).

- References listed in alphabetical order, cited by author and year in the text (not numbered)
- Figures and tables at the end of the main document after the references, or uploaded as separate files. Figure legends should be included at the end of the main text after the references, and table legends should be next to their corresponding tables
- Text is single-column

Article types and lengths

- Research article: No limit (under 7500 words recommended)
- Review: No limit
- Forum: No limit
- Short Communication: 2,000 words or less (not including abstract, references, or figure and table legends)
- Letter to the Editor: 2,000 words or less

For explanations of the different article types, please see the Article Types section of these author instructions.

Language

- English. A second abstract in a second language is permitted. Authors are responsible for the accuracy of non-English abstracts.
- Manuscripts with poor English that would not be understandable for reviewers will be withdrawn before review. Those authors are encouraged to pursue English-language assistance from a native speaker or editing service before resubmitting their paper. Having a paper in good English makes it easier for editors and reviewers to focus on the scientific merits of the paper. For more information on language editing, please see the Language Editing section of these author instructions.

Acceptable file types

- Main document: doc, docx, rtf
- Tables: Editable tables at the end of the main document. xls and xlsx files are not accepted (except as supplementary files)
- Figures: tif (preferred), eps (preferred), rtf, doc/docx, ppt/pptx, pdf, ps, psd, ai, gif, png
- Supplementary files: Most file types accessible to users. Extremely large files should be uploaded in a third-party repository.

Page charges

In order to publish in JME, authors are required to pay page charges or an Open Access fee. ESA members are exempt from page charges and receive a discount on the Open Access fee. For more information, including pricing, please visit the [Charges and Licensing](#) page.

Plagiarism and text recycling

All submitted papers are evaluated for excessive direct copying through CrossRef's Ithenticate service. Papers should be written in the authors' own words. Direct copying of sentences or paragraphs, even if the original source is cited or if it is your own previous work, is unacceptable (although some overlap is expected in materials and methods). For more information, please see the Publication Ethics section of these author instructions.

Theses, dissertations, and pre-prints

If your paper (or a previous version of it) was posted on a pre-print server or is part of a thesis or dissertation that has been published online or in an institutional repository, please note this in your cover letter so that it won't be flagged for plagiarism.

CrossRef Funding Data Registry

In order to meet your funding requirements authors are required to name their funding sources, or state if there are none, during the submission process. For further information on this process or to find out more about CHORUS, [visit the CHORUS initiative](#).

Previous rejections

Papers that have been rejected from one ESA journal cannot be resubmitted to any other ESA journal. Papers that have been withdrawn can be resubmitted to the same journal or another ESA journal. Authors whose papers have been rejected are entitled to appeal their rejection to the journal's editorial board. More information on the appeals process can be found on the [Journal Policies](#) page.

Statistics and sample size

Statistics should be fully reported (i.e., F-value, both degrees of freedom [treatments and replicates], and exact P-value [unless it's less than 0.001]). Furthermore, the paper will be withdrawn if Duncan's Multiple Range Test is used for papers that do not deal with plant resistance. For more information on statistics, please see the Statistics section of these author instructions.

Papers that have insufficient sample sizes (e.g., only a single year of data collected at one location for either insect surveys, pesticide studies, or other field data) are immediately withdrawn. The duration and size of trials/sampling must be biologically significant.

Plant extract papers

For papers that test the efficacy of plant extracts or other compounds on control or behavior modification of insects, the concentrations of the chemical constituents must be listed.

Petri dish tests

Petri dish experiments are not accepted unless they contain a field, semi-field, or greenhouse test.

Personal communications

Personal communication citations should be accompanied by a letter from the person being cited giving permission to use him or her as a citation and verifying the claim being cited. This letter should be uploaded as a supplementary file.

Abbreviations

Abbreviations should be used sparingly. Standard abbreviations for measurements according to Scientific Style and Format, 8th edition, are acceptable, as well as common

abbreviations that improve the readability of a manuscript (e.g., DNA, PCR). All other abbreviations used should be defined at the first use.

Publication Ethics

JME is committed to ethical behavior in all aspects of scholarly publishing. Please ensure your paper meets the following ethical criteria:

- The author list is complete and correct. Please see the “[Journal Policies](#)” page for authorship information and policies.
- No portions of text are directly copied from other sources, including one’s own previous papers (although some overlap is tolerated in materials and methods). Direct quotes should be placed in quotation marks. All manuscripts undergo a plagiarism test before they are sent out for review.
- The data have not been published elsewhere. Data published in another paper, including in a paper in another language, may not be published again. If portions of data published previously are being used, the author must provide explicit written consent from the publisher of the previous paper to reuse the data.

Experimental Ethics

Research published in JME must adhere to minimal ethical and compliance requirements for medical, veterinary, and wildlife conservation research. Medical entomology research may include human subjects and/or domestic and wild animals and therefore requires that authors reference compliance protocols to indicate adherence to federal, state, and local regulations, permits, and authorizations. International authors should reference similar compliance documents from their government and/or institution.

Listed below is a minimal series of basic requirements requested from USA and international researchers to be included, as needed, within an ethical section positioned in the Materials and Methods section of each manuscript:

1. Biological Use Authorization (BUA). Surveillance, epidemiological, and experimental infection studies with pathogens require containment for diagnostics and culture depending upon the virulence of the organism and the risk of vectorborne, contact, and/or aerosol transmission. Descriptions of appropriate containment for different biosafety levels can be [downloaded as a pdf](#). A search engine and database to determine the Risk Group of the organism[s] concerned can be found at the [ABSA International website](#). Researchers should report their institution’s required compliance review and approved containment level BUA protocol for the pathogen(s) or arthropods used.
2. Institutional Review Board (IRB) compliance. Use of human subjects in research must be approved by IRB committees adhering to [US Department of Health and Human Services guidelines](#). Each organization may have different interpretations of guidelines required for human subject activities which may range from surveys, house entry for arthropod collection, use of humans to feed arthropods, use of

humans as bait for sampling host-seeking insects, test subjects for candidate repellents, etc.¹

3. Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) compliance. Use of animals in research must adhere to protocols meeting minimal ethical requirements for collection, maintenance, and experimental procedures. Research done within the USA or funded by USA agencies must adhere to [requirements described](#) by the US National Institutes of Health, and these protocols should be appropriately referenced.
4. Sampling wildlife. Most countries and states/provinces/districts require permits to collect vertebrate animals and some insects for research purposes. This is especially true for migratory species, such as birds, where international agreements are in place; for example, see [permitting requirements](#) for collecting and banding birds in North America.

An example of state permits required for taking or trapping and release of wildlife within California can be found at [Department of Fish and Wildlife website](#).

Additional permits may be required for sampling on wildlife refuges or nature conservatory properties. Reference to these permits should be required to ensure sampling was done in compliance with regional oversight, especially for endangered or threatened species.

5. Transport and release of organisms. With the increasing use of genetically modified arthropods for population or pathogen control, medical entomologists must adhere to correct oversight governing production and release. The US Department of Agriculture has [strict requirements](#) for the transport and/or release of organisms as well as experimental use permitting for applications of experimental compounds for arthropod control.

The Biotechnology Quality Management System (BQMS) Program within the USDA helps organizations, including small businesses and academic researchers, analyze the critical control points within their management systems to better maintain compliance with the APHIS regulations (7 CFR part 340) for the import, interstate movement, and field release of regulated genetically engineered (GE) organisms.

¹Aultman, K. S., E. D. Walker, F. Gifford, D. W. Severson, C. B. Beard, and T. W. Scott. 2000. Managing risks of arthropod vector research. *Science* 288: 2321-2322.

Conflicts of interest

Potential conflicts of interest include any relationships of a financial or personal nature between an author or coauthor and individuals or organizations which, in theory, could affect or bias an author's scientific judgment, or limit an author's freedom to publish, analyze, discuss, or interpret relevant data.

Sources of financial support originating outside the coauthors' home institution(s) for any aspect of a study must be indicated in the Acknowledgments section of the paper. Financial support includes not only funding, but gratis provision of materials, services, or equipment. Any additional potential conflicts of interest, not covered in the acknowledgments of financial support, must be revealed to the editor at submission, and disclosed in a statement

immediately following the Acknowledgments.

If an author or coauthor has entered into an agreement with any entity outside that authors' home institution, including the home institution of another coauthor, giving that entity veto power over publication of the study or over presentation, analysis, discussion, or interpretation of any results of the study, whether or not such veto power was exercised, this information must be disclosed in a statement immediately following the Acknowledgments.

Article Types

Research

Research articles report original observations and experiments, the results of the experiment, and a discussion of the significance of the results. There is no word limit for research articles.

Review

Review articles review and synthesize current information on a topic. Review articles can also contain historical threads of important ideas (i.e., are not confined to recent citations). There is no word limit for review articles.

Forum

Forum articles are authored by acknowledged leaders in the field, review a research area, and include a stimulating, thought-provoking discussion that focuses on important, and sometimes controversial, issues. They should provide an innovative approach to current thought and speculate about future research directions.

Short Communications

Short communications should be similar to a research article, but with briefer Materials and Methods and Discussion. Total length should be 2,000 words or less.

Letter to the Editor

JME will consider submissions in the form of a letter to the editor in which the authors express their viewpoint on scientific issues. Appropriate content can include comments or criticisms in reference to a published paper, whether or not in an ESA journal, or comments and opinions unrelated to a specific published paper. A letter will be limited to 2,000 words, 10 references, and one table or figure.

The Editor-in-Chief (EIC) will judge whether a submitted letter merits consideration for potential publication based on relevance, inherent interest, and coherence of the submission, but with a view to allowing a range of opinions to be expressed. If the EIC considers the submission to be suitable in principle, he/she will send it to at least one anonymous reviewer for comments and will edit it for style and appropriate language

before returning it to the corresponding author for revisions. More information on letters to the editor can be found on our Journal Policies page.

Title Page

The title page should include:

1. *Corresponding author*: Include full name, mailing address, telephone number, and email address.
2. *Title*: Should be as short as possible. Only include common names that are listed in the ESA Common Names of Insects & Related Organisms. Do not include authors of scientific names. Insert “([Order]: [Family])” immediately after the name of the organism.
3. *Author list*: Include all authors in the order the names should be published.
4. *Affiliation line*: Include full addresses of all authors. If there are multiple affiliations, designate through numbered footnotes.

5. Abstract

- a. 250 words or less.
- b. Give scientific name and authority at first mention of each organism.
- c. Do not cite references, figures, tables, probability levels, or results.
- d. Refer to results only in the general sense.
- e. A second abstract in a second language is permitted.

6. Keywords

- a. Below the abstract, provide three to five keywords, separated by commas.
- b. Do not use abbreviations, combined keywords, or species names.

Body

Introduction

Clearly state the basis of your study along with background information and a statement of purpose.

Materials and Methods

Include a clear and concise description of the study design, experiment, materials, and method of statistical analysis.

Results

Clearly present the results. Do not include interpretation of results or interpretation of statistical analysis—simply present the results of the experiment and the results of the statistical analysis. Data listed in tables should not be listed in the results; instead, refer to the table.

Discussion

Interpret and discuss results of the study and their implications. Include suggestions for direction of future studies, if appropriate.

Acknowledgments

Place the acknowledgments after the text. Organize acknowledgments in paragraph form in the following order: persons, groups, granting institutions, grant numbers, and serial publication number.

Following the Acknowledgments, you may include a statement of author contribution outlining the specific contributions of each author to the article. A statement of author contribution is welcomed but not required.

References

- EndNote style is “Environmental Entomology,” and Reference Manager style is “*Journal of Medical Entomology*.”
- Only cite published or formally accepted (in press) articles, not submitted articles.
- References should be in alphabetical order. If multiple references from the same author are cited, those references should be in chronological order.
- Abbreviate journal titles according to the most recent issue of BIOSIS Serial Sources.
- For non-English titled journals that are cited in the references, the title of the journal should be spelled out.
- Systematics-related articles may specify that all serial titles be spelled out for final publication.

Sample reference styles

Journal Articles

Evans, M. A. 2000. Article title: subtitle (begin with lowercase after colon or dash unless first word is a proper noun). J. Abbr. 00:000–000.

Evans, M. A. 2001a. Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., and R. Burns. 2001. Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., and A. Tyler. 2001. Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., A. Tyler, and H. H. Munro. 2000. Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., R. Burns, and A. A. Dunn. 2001. Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

In Press

Evans, M. A. 2002. Article title. J. Econ. Entomol. (in press).

Books

Burns, R. 2001. Title (initial cap only): subtitle (no initial cap after colon). Publisher, city, state abbreviation or country.

Evans, M. A. 2001. Colorado potato beetle, 2nd ed. Publisher, city, state abbreviation or country.

Tyler, A. 2001. Western corn rootworm, vol. 2. Publisher, city, state abbreviation or country.

Article/Chapter in Book

Tyler, A. 2001. Article or chapter title, pp. 000–000. In T.A.J. Royer and R. B. Burns (eds.), Book title. Publisher, city, state abbreviation or country.

Tyler, A., R.S.T. Smith, and H. Brown. 2001. Onion thrips control, pp. 178–195. In R. S. Green and P. W. White (eds.), Book title, vol. 13. Entomological Society of America, Lanham, MD.

No Author Given

(USDA) U.S. Department of Agriculture. 2001. Title. USDA, Beltsville, MD.

(IRRI) International Rice Research Institute. 2001. Title. IRRI, City, State or Country.

Patents

Harred, J. F., A. R. Knight, and J. S. McIntyre, inventors; Dow Chemical Company, assignee. 1972 Apr 4. Epoxidation process. U.S. patent 3,654,317.

Proceedings

Martin, P. D., J. Kuhlman, and S. Moore. 2001. Yield effects of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) feeding, pp. 345–356. In Proceedings, 19th Illinois Cooperative Extension Service Spray School, 24–27 June 1985, Chicago, IL. Publisher, City, State.

Rossignol, P. A. 2001. Parasite modification of mosquito probing behavior, pp. 25–28. In T. W. Scott and J. Grumstrup-Scott (eds.), Proceedings, Symposium: the Role of Vector-Host Interactions in Disease Transmission. National Conference of the Entomological Society of America, 10 December 1985, Hollywood, FL. Miscellaneous Publication 68. Entomological Society of America, Lanham, MD.

Theses/Dissertations

James, H. 2001. Thesis or dissertation title. M.S. thesis or Ph.D. dissertation, University of Pennsylvania, Philadelphia.

Software SAS Institute. 2001. PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute, Cary, NC.

Online Citations

Reisen, W. 2001. Title. Complete URL (protocol://host.name/path/file.name) and/or DOI (Digital Object Identifier)

Tables

-
- Tables should be editable tables in a Word document.
 - If a table continues on more than one page, repeat column headings on subsequent page(s).

- All columns must have headings.
- Leave no space between lowercase letters and their preceding values (e.g., 731.2ab).
- Do not footnote the title—use the unlettered first footnote to include general information necessary to understand the title (e.g., define terms, abbreviations, and statistical tests).
- Use approved abbreviations or abbreviations already defined in the text and define others in the general footnote.
- Use the following abbreviations in the body or column headings of tables only: amt (amount), avg (average), concn (concentration), diam (diameter), exp (experiment), ht (height), max (maximum), min (minimum), no. (number), prepn (preparation), temp (temperature), vs (versus), vol (volume), wt (weight) Jan (January), Feb (February), Mar (March), April, May, June, July, Aug (August), Sept (September), Oct (October), Nov (November), and Dec (December).

Figures

- Figures should be at least 300 dpi, or 1200 dpi for line graphs.
- The quality in which figures are submitted is the quality in which they will print—please ensure figures are high quality.
- The following file types of figures are accepted: tif (preferred), eps (preferred), rtf, ppt/pptx, pdf, ps, psd, ai, gif, png. Figures should be in their native format for best quality.
- Figures should be prepared in CMYK color.
- Maximum height: 240 mm.
- Maximum width (one-column figure): 82 mm.
- Maximum width (two-column figure): 171 mm.
- For more information on preparing figures, see OUP's Author Resource Centre on [figures](#).
- All authors are required to pay additional charges for color figures. Authors may elect to publish in grayscale in print and in color online for no charge.

Authors are encouraged to submit a graphical abstract as part of the article, in addition to the text abstract. The graphical abstract should clearly summarize the focus and findings of the article, and will be published as part of the article online and in PDF. The graphical abstract should be submitted for peer review as a separate file, selecting the appropriate file-type designation in the journal's online submission system. The file should be clearly named, e.g. *graphical_abstract.tiff*. See [this page](#) for guidance on appropriate file format and resolution for graphics. Please ensure graphical abstracts are in landscape format.

Note that graphical abstracts will be subject to any print reproduction charges that the journal levies for colour figures.

Supplementary Material

Supplementary Material may be submitted in the form of one or more files to accompany the online version of an article. Such material often consists of large tables, data sets, or videos that are not possible or convenient to present in print media. Supplementary Material represents substantive information to be posted on the ESA journal website that enhances and enriches the information presented in the main body of a paper; however, the paper must stand on its own without the need for the reader to access the supplementary information to understand and judge the merits of the paper. All Supplementary Material must be provided at the time of manuscript submission and will be distributed to reviewers as part of the normal peer-review process. It will not be edited during production and will be published as submitted.

Supplementary Material should be:

- Referenced in the body of the main paper (e.g., Supp. Table S1), where a link will take the online reader to the file.
- Be labeled with an appropriate title and caption.
- Citations for any literature referenced within a Supplementary Material file should be listed in a References Cited section at the end of the file, even when a citation is duplicated in the main body of the paper.
- Videos should be kept to a reasonable size to facilitate downloading by readers.

Species Authority, Order, Family, and Common Names

- Authors should provide the authority, order, and family for all organisms that are central to the paper (including plants, bacteria, and other non-arthropod organisms) at the first mention of the organism. It is the author's responsibility to provide accurate authority, order, and family information. Organisms mentioned in passing or whose importance to the paper is limited do not need to have full authority, order, and family listed, nor do mentions of common names of groups (e.g., mosquitoes, beetles, ticks, etc.).
- If a species name is included in the title of a paper, either the ESA-approved common name or the Latin name, the order and family should also be provided. If the order and family of an organism is provided in the title of the paper, it does not need to be provided again in the abstract and main text.
- If an organism is not listed in the title but is central to the paper, the order and family should be provided at first mention of the organism in both the abstract and the main text.
- The taxonomic authority of an organism that is central to the paper should be given the first time the organism is mentioned in both the abstract and the main text, but not in the title. For tables that include lists of species, authority should be given for each species if it is the first time it is being mentioned in the paper.
- If multiple organisms in the same genus are central to the paper, order and family only need to be provided for the first species mentioned in the genus. If multiple

organisms are central to the paper, are in different genera, but are in the same order and family, order and family should be provided at first mention of each organism.

- If two organisms that share the same order and family are mentioned in the title or listed in the text of the paper together, the order and family should be placed after the first species listed and does not need to be repeated after the second species.
- A genus can be abbreviated after the first mention (except to start a sentence, in which case the genus should be spelled out). If two species belong to different genera but the genera start with the same letter, the first two letters can be used for abbreviations.
- Only ESA approved common names should be used. Common names are lower case, except for proper nouns and their derivations.

Statistics

All data reported (except for descriptive biology) must be subjected to statistical analysis. Results of statistical tests may be presented in the text, in tables, and in figures. Statistical methods should be described in Materials and Methods with appropriate references. Descriptions should include information such as sample sizes and number of replications. Only t-tests, Chi square, and analyses of variance require no citation. Cite the computer program user's manual in the References Cited.

Probit/logit

When presenting results of probit/logit analysis, the following columns should be included in tables in the following order (left to right); n, slope + SE, LD (or LC) (95% CL), and chi-square. When a ratio of one LD versus another is given, it should be given with its 95% CI. Statistical tests to show what model best fits data intended to estimate the 99.9986% level of effectiveness should be presented to justify use of any model, including the probit model. Thus, we do not recommend use of the Probit 9 without tests to show that the probit model fits the data.

Analysis of Variance or t-test

When presenting the results of analysis of variance or a t-test, specify F (or t) values, degrees of freedom, and P values. This information should be placed in parentheses in the text. Example: (F = 9.26; df = 4, 26; P < 0.001). If readability of the text is affected by the presence of repeated parenthetical statistical statements, place them in a table instead.

Regression

In regressions, specify the model, define all variables, and provide estimates of variances for parameters and the residual mean-square error. Italicize variables in equations and text.

Variance and sample size

Include an estimate of the variance (or standard error) and sample size for each mean regardless of the method chosen for unplanned multiple comparisons. The use of Duncan's Multiple Range Test (DMRT) is not acceptable as a mean separation test as it was designed to be a very liberal test intended to find even minor differences in resistance between plant lines used for breeding.

Model Analysis, Guidelines, Equations, and Computer Code

Model Analysis

At the beginning of the manuscript, authors should state clearly the goals of their model construction and analysis. Evaluation by reviewers depends upon these goals and the type of model. Authors should attempt to describe the main conclusions, limitations, and sensitivity of results to assumptions. For stochastic models, describe the variability in the results.

Modeling Guidelines

The following guidelines pertain to any mathematical model calculated for purposes other than statistical analysis.

- Authors must adequately describe both model structure and model analysis.
- Authors must explain and justify original equations and computer programs or justify the selection of a published software package used in the computation of models.
- Model structure and steps in the analysis must be described in the Materials and Methods section.
- Without presenting extensive computer code, the text must permit an understanding of the model that would allow most mathematically inclined scientists to duplicate the work.
- Present all equations that represent the biology of the system being modeled.
- Unless their derivation is self-evident, show how the equations were derived and mention the underlying assumptions.
- Express how the equations are solved over time and space.
- Provide references for standard techniques (e.g., matrix manipulation, integration).
- Define all variables and parameters in each equation and describe their units (e.g., time, space, and mass).
- In the Materials and Methods or Results section, present the range of parameter values included in the model, and describe the uncertainty in or range of validity of these values.

Equations

Consult Mathematics into Type for correct formatting of equations and mathematical variables. Italicize all mathematical variables.

Validation or Testing of Model Results

Data used for validation must be independent of data used to build or calibrate the model. Authors must state why the model did not require testing (e.g., theoretical study), why it cannot be tested (e.g., lack of data), or how it was tested.

Structure of Computer Code

For models solved or simulated by computers, mention the programming language and computer used. Describe the important numerical methods used in calculating the model (e.g., integration and random number generation). Mention how the program's logic and algorithms were tested and verified. When published software is computed, provide a reference and state which procedures were used. Discuss in any section of the manuscript the limitations of the published software. Original computer programs should be made available at the request of reviewers and readers.

Taxonomic Papers

ICZN compliance

JIS is compliant with the International Code of Zoological Nomenclature, and the publishing processes of the journal ensure that new acts of nomenclature are considered valid under the code. JME is permanently archived with CLOCKSS, LOCKSS, and Portico in a manner that preserves the content and layout of the work.

Nomenclatural Works and Zoobank registration

You will be asked during the submission process whether your article contains a new nomenclatural act. If it does, in order to comply with ICZN regulations, the editorial office will register your article in ZooBank on your behalf and will insert a nomenclatural statement, which includes a Life Science Identifier (LSID), into the article. Your article will also include the online publication date, and the statement “Version of Record, first published online [online publication date], with fixed content and layout in compliance with Art. 8.1.3.2 ICZN.” Following publication, the editorial office will update your ZooBank entry with the DOI, Volume, and Issue information.

If you have already registered the paper or would like to do so yourself, please let the editorial office know.

Taxonomic Style

Follow the *International Code of Zoological Nomenclature* for taxonomic style. Some specific areas to note:

- Center the heading that indicates the name of the taxon in bold type.
- Center figure numbers in parentheses under the main heading; do not use bold type.
- Start all synonymies at the left margin with runovers indented.
- Include authors and date.
- References must appear in References Cited section.
- Use telegraphic style throughout descriptions.

Taxonomy Headings

Use only acceptable 3rd-level subheadings such as:

- Male
- Female
- Material Examined
- Type Material
- Distribution
- Etymology
- Biology
- Discussion

Avoid using “Description” as a subheading.

Dates

- Use Roman numerals I through XII to designate month of collection.
- Use Arabic numerals 0000 through 9999 to designate collection years. Do not abbreviate other years, including the 21st century, except when explicitly transcribing exactly what appears on specimen labels.
- Express dates in this format: day-month (use a Roman numeral)-year. Example: 2-V-97.

Locality Other than Principal Types

- Start with the largest area followed by successively smaller areas separated by colons.
- Capitalize countries.

- Arrange data for each locality in the following order: count of specimens and sex or stage (as applicable), city or vicinity, date, collector, and depository. Example: MEXICO: Tamaulipas: 1 male, 1 female, Ciudad Mante, 15-III-97, K. Haack; 5 females, Ciudad Victoria, 3-VII-99, C. Hughes, MCZ.
- Arrange localities alphabetically.
- Use a semicolon to separate data for different localities.
- Define depositories in the Materials and Methods.

Type Material

Start description with the principal type in capital letters. Follow this immediately with count and sex of specimens (use male and female symbols if possible), then place additional data in the order of locality, date, additional data, and collector. Separate these items with commas. Example: HOLOTYPE: 1 male, Locust Grove, VA, 22-X-98, on *Cercis canadensis*, R. H. Foote. PARATYPES: 2 males, same data.

Voucher Specimens

Voucher specimens of arthropods serve as future reference for published names used in scientific publications. Authors are required to deposit voucher specimens in an established, permanent collection and to note in the published article that the expected deposition has been made, its location, and the collection accession number. Authors should contact the curator of a voucher repository before deposition concerning the procedures required for curation to ensure that the collection will accept the voucher materials. The designation and proper labeling of voucher specimens is the author's responsibility. When available, at least three specimens should be deposited. Each specimen should have the following information provided at the time of deposition:

- Standard label data that are required for the specimens collection (i.e., locality, date of collection, collector, host, ecological data, whether the specimen is from a laboratory collection, etc.).
- An identification label that includes the identifier and date of identification.
- A label that designates the specimen as "voucher."

Immutable Advance Access

JME publishes articles online ahead of inclusion in an issue via OUP's Advance Access. In order to comply with the requirements of the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN) with regard to nomenclatural works, ALL articles published by ESA's journals, regardless of whether they include nomenclatural information, will be immutable; this means that no changes will be allowed to any article without the publication of an erratum clearly stating the changes that have been made. Therefore, it is the responsibility of the authors to carefully check their proofs for accuracy, and to notify the publisher of any changes that are necessary prior to Advance Access publication.

Gene Sequencing

- Inclusion of a GenBank/EMBL accession number for primary nucleotide and amino acid sequence data is required.
- Sequences from new species and new genes must indicate the proportion of the gene sequenced and should include data from both strands.
- The accession number may be included in the original manuscript or the sequence may be provided for review and an accession number provided when the manuscript is revised.

Datasets Deposited in Third-Party Repositories

The Journal of Medical Entomology encourages authors to submit complete datasets behind the paper to a third-party repository. Datasets deposited in third-party repositories should be cited in the references of a paper. Dataset citations can be inserted into a paper at any point until the proofs have been returned.

ESA journals are integrated with [Dryad](#), an online data repository. Upon submission, authors will be sent a link to easily deposit the full dataset(s) behind their research in Dryad. Datasets deposited in Dryad are given unique DOIs, linked to the corresponding paper, and are available to be reviewed by subject editors of the journal upon request. Depositing data in Dryad is optional.

If you would like your paper to link to the dataset, data should be deposited prior to acceptance. Authors are required to pay Dryad for depositing data, but this fee is only charged if a paper is accepted. ESA members are eligible to request one of a limited number of waivers of the deposit fee. Please contact the ESA editorial office (pubs@entsoc.org) to request a waiver.

Language Editing

Many manuscripts are withdrawn without review because the English language is not good enough to be sent to reviewers. For authors whose primary language is not English, we suggest having the paper edited by an English-speaking colleague or professional editing service prior to submission. For a professional editing service, ESA journals have a partnership with the [Charlesworth Group](#), whereby ESA authors receive a 10% discount on editing services. The discount is automatically applied if authors follow the hyperlink above.

Immutable Advance Access

JME publishes articles online ahead of inclusion in an issue via OUP's Advance Access. In order to comply with the requirements of the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN) with regard to nomenclatural works, ALL articles published by ESA's journals, regardless of whether they include nomenclatural information, will be immutable; this means that no changes will be allowed to any article without the publication of an erratum clearly stating the changes that have been made. Therefore, it is

the responsibility of the authors to carefully check their proofs for accuracy, and to notify the publisher of any changes that are necessary prior to Advance Access publication.

Revised Papers

For revised papers, we have a few more formatting requirements than we do for new submissions, to ensure the paper is ready for publication if it is accepted.

Response to reviews

Provide a document listing how you changed your manuscript in response to each point mentioned by the reviewers. If you did not implement a change suggested by a reviewer, please explain why.

Style

For any matters of editorial style not covered in these author guidelines, ESA journals adhere to the [Council of Science Editors \(CSE\) Style Guide](#).

Figures

- Figures should be at least 300 dpi, or 600 dpi for line graphs.
- Maximum figure height: 240 mm.
- Maximum width (one-column figure): 82 mm.
- Maximum width (two-column figure): 170 mm.
- The quality in which figures are submitted is the quality in which they will print—please ensure figures are high quality.
- Each figure should be submitted as an individual file. Please do not copy and paste them into the main document.
- The following file types of figures are accepted: tif, eps, rtf, doc/.docx, ppt/pptx, pdf, ps, psd, ai, gif, png.
- Figures should be prepared in CMYK format (not RGB).
- For more information on preparing figures, see Oxford University Press's Author Resource Centre on [figures](#).

References

ESA journals use “Environmental Entomology” style in EndNote, or “Journal of Medical Entomology” style in Reference Manager. Please see the References section in these author instructions for examples.

Measurements

Use metric units. English units may follow within parentheses if needed.

Nomenclature

- Give full scientific name and authority at first mention of each organism (including plants and non-insect animals) in the abstract and again in the text.
- Only use common names listed in the current [ESA Common Names of Insects & Related Organisms](#) online database. Common names should be lowercase, except for proper nouns and their derivations.
- When possible, please provide as much genetic and/or colony information available is useful (for example, “Rockefeller colony of *Aedes aegypti* (L.)”). Including geographic origin and generations in culture is also useful, but may not always be known and is not required.

Submissions of Cover Photographs

ESA’s journals welcome submissions of insect photos for their covers. Photos must be of living (not pinned) insects and must be submitted as high-resolution (300 dpi or higher) image files. If you wish to crop your image to the exact dimensions of our cover, the dimensions to use are W: 219 mm x H: 203 mm; however, photos that do not match those dimensions can still be accepted. The insect species featured on the cover of a given issue must be mentioned in the issue in question.

Photographers will be asked to give ESA one-time permission to use the photo on the journal cover and will retain their copyright of the photo.

Submit photos to pubs@entsoc.org. If you have questions about submitting a photograph for the cover, please contact ESA Director of Publications Lisa Junker at ljunker@entsoc.org.