

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(Modalidade: Licenciatura)

GLEICYELE GONÇALVES LIMA

DIFERENCIAÇÃO POR MORFOMETRIA GEOMÉTRICA ALAR ENTRE
POPULAÇÕES DE *CULICOIDES* (DIPTERA: CERATOPOGONIDAE)
INSULAR E CONTINENTAL NO BRASIL

SÃO LUÍS/MA

2026

GLEICYELE GONÇALVES LIMA

**DIFERENCIAÇÃO POR MORFOMETRIA GEOMÉTRICA ALAR ENTRE
POPULAÇÕES DE *CULICOIDES* (DIPTERA: CERATOPOGONIDAE)
INSULAR E CONTINENTAL NO BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
em Ciências Biológicas do Centro de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Maranhão, como requisito para obtenção do
título de Licencianda em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Manuel Macário
Rebêlo

Coorientadora: Dra. Maria da Conceição Abreu
Bandeira

SÃO LUÍS/MA

2026

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

Lima, Gleicyele Gonçalves.

DIFERENCIAÇÃO POR MORFOMETRIA GEOMÉTRICA ALAR ENTRE
POPULAÇÕES DE CULICOIDES DIPTERA: CERATOPOGONIDAE INSULAR
E CONTINENTAL NO BRASIL / Gleicyele Gonçalves Lima. -
2026.

66 p.

Coorientador(a) 1: Maria da Conceição Abreu Bandeira.

Orientador(a): José Manuel Macário Rebêlo.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas -
Licenciatura, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2026.

1. Maruins. 2. Vetor Biológico. 3. Variação
Populacional. 4. Biogeografia. 5. Maranhão. I. Abreu
Bandeira, Maria da Conceição. II. Manuel Macário Rebêlo,
José. III. Título.

GLEICYELE GONÇALVES LIMA

**DIFERENCIAÇÃO POR MORFOMETRIA GEOMÉTRICA ALAR ENTRE
POPULAÇÕES DE *CULICOIDES* (DIPTERA: CERATOPOGONIDAE)
INSULAR E CONTINENTAL NO BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso de
Graduação em Ciências Biológicas do
Centro de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Maranhão, como
requisito para obtenção do título de
Licencianda em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Manuel Macário
Rebêlo

Coorientadora: Dra. Maria da Conceição
Abreu Bandeira

Aprovado em: 14/07/2026

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Manuel Macário Rebêlo (Orientador - UFMA)

Prof. Dr. Leonardo Dominici Cruz (Interno - UFMA)

Prof. Dr. Samuel Vieira Boff (Interno - UFMA)

*Nossas dívidas são traidoras e nos fazem
perder o que, com frequência, poderíamos
ganhar, por simples medo de arriscar.*

William Shakespeare

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pela fonte de toda sabedoria, força, coragem e serenidade concedidas em todos os momentos desta caminhada acadêmica. Foi Ele quem me deu coragem nos momentos de incerteza, serenidade nas horas e inspiração para seguir em frente quando parecia impossível.

A cada etapa desta pesquisa foi marcada por desafios e aprendizados que só se tornaram possíveis graça às pessoas que caminharam ao meu lado. Mais do que simplesmente estarem presentes, cada uma delas teve um papel de importância única e essencial na construção desta trajetória, oferecendo apoio, incentivo e inspiração.

A minha mãe, dona Pedrolina, expresso a minha mais profunda gratidão por tudo que já fez até esta etapa tão especial da minha vida. Por todo amor e carinho, pela paciência infinita e pelo apoio constante em cada desafio que passei durante o curso. Houve momentos em que pensei não conseguir, mas sua presença e incentivo me deram forças para seguir. Este sonho também é seu, e esta conquista é fruto do seu cuidado e dedicação.

Aos colegas de laboratório, agradeço todas as tardes compartilhadas na bancada, pelas trocas de conhecimentos técnicos, e principalmente, pelos momentos de convivência, amizade e aprendizado coletivo. Cada momento de troca de experiência vivida, a cada contribuição e cada ajuda prática foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos colegas da minha turma de 2020.2, deixo meus sinceros agradecimentos. Está ao lado de vocês durante o curso tornou essa caminhada mais leve e significativa. As contribuições de cada um, seja com palavras de incentivo, companheirismo ou simplesmente amizade, foram essenciais para que eu seguisse ao longo da graduação. Deixo registrado meu reconhecimento especial ao Samuel Pimenta, Victória Laysla e Marcos Vinicius pelas conversas e pela parceria nos momentos mais desafiadores. A presença de vocês fez toda a diferença e marcou profundamente a minha trajetória acadêmica.

Não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que, de alguma forma, fizeram parte da minha trajetória: professores que transmitiram conhecimento, a Universidade Federal do Maranhão, expresse minha imensa gratidão, pela oportunidade de formação acadêmica, pela estrutura oferecida e pelo ambiente de aprendizado que possibilitou meu crescimento pessoal e profissional. Este trabalho é fruto não apenas do meu esforço individual, mas da soma de todos essas presenças, apoios e incentivos.

RESUMO

Os maruins são insetos de pequeno porte, amplamente distribuídos em ambientes úmidos e reconhecidos pela relevância médico-veterinária devido ao hábito hematofágico das fêmeas, essencial para a maturação dos ovos. Apresentam uma ampla diversidade no Brasil, mas no estado do Maranhão, a identificação de espécies ainda enfrenta desafios devido algumas semelhanças morfológicas entre grupos, o que dificulta análises ecológicas e epidemiológicas. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo analisar a variação morfológica alar intra e interpopulacional de *Culicoides* insular (Ilha do Cajual) e continental (Cujupe), utilizando a técnica de morfometria geométrica como ferramenta de diferenciação populacional. Foram analisados 216 indivíduos de *Culicoides*, abrangendo seis espécies: *C. foxi*, *C. maruim*, *C. guyanensis*, *C. insignis*, *C. leopoldoi* e *C. paucienfuscatus*. Fez-se a digitalização das asas e marcação de 13 marcos anatômicos, submetidos a análises no software MorphoJ, que permitiu capturar variações sutis na conformação alar. O ajuste de Procrustes e a Análise de Variáveis Canônicas (CVA) demonstrou que os dois primeiros eixos (CV1 X CV2) aplicaram 80,50% da variação morfológica. O teste global foi altamente significativo (Goodall's $F = 24,17$; $p < 0,0001$), confirmando diferenças marcantes entre os grupos. As análises revelaram maior proximidade morfológica entre *C. foxi* e *C. maruim*, enquanto *C. guyanensis* apresentou maior divergência em relação às demais espécies. Entre as localidades diferenças significativas foram observadas para *C. foxi*, *C. leopoldoi* e *C. guyanensis*, indicando que fatores ambientais e o isolamento geográfico influenciam a conformação alar. Já *C. maruim*, *C. paucienfuscatus* e *C. insignis* não apresentaram diferenças significativas, sugerindo maior homogeneidade populacional possivelmente associada ao fluxo gênico e dispersão passiva. A morfometria geométrica é uma ferramenta eficaz para detectar variações sutis e compreender os padrões populacionais de *Culicoides*. Os resultados fornecem subsídios importantes para estudos taxonômicos, ecológicos e de vigilância entomológica, além de contribuir para estratégias de controle de vetores em regiões costeiras do Maranhão.

Palavras-chave: Maruins, Vetor biológico, Variação populacional, Biogeografia, Maranhão.

ABSTRACT

Biting midges belonging to the genus *Culicoides* Latreille, 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) are small insects widely distributed in humid environments and recognized for their medical and veterinary importance due to the hematophagous behavior of females, which is essential for egg maturation. They exhibit considerable diversity in Brazil; however, in the state of Maranhão, species identification remains challenging because of morphological similarities among some groups, which hinders ecological and epidemiological analyses. In this context, the present study aimed to analyze intra- and interpopulation wing morphological variation in insular (*Ilha do Cajual*) and continental (*Cujupe*) populations of *Culicoides*, using geometric morphometrics as a tool for population differentiation. A total of 216 specimens belonging to six abundant species were analyzed: *C. foxi*, *C. maruim*, *C. guyanensis*, *C. insignis*, *C. leopoldoi*, and *C. paucienfuscatus*. Wing images were digitized, and 13 anatomical landmarks were recorded and analyzed using the MorphoJ software, allowing the detection of subtle variations in wing shape. Procrustes superimposition and Canonical Variate Analysis (CVA) showed that the first two axes (CV1 $\times$ CV2) accounted for 80.50% of the morphological variation, revealing overlap and greater morphological similarity between *C. foxi* and *C. maruim*. The global test was highly significant (Goodall's $F = 24.17$; $p < 0.0001$), confirming marked differences among the groups. The analyses revealed greater morphological similarity between *C. foxi* and *C. maruim*, whereas *C. guyanensis* showed the highest divergence relative to the other species. Comparisons between localities within the same species indicated significant differences for *C. foxi*, *C. leopoldoi*, and *C. guyanensis*, suggesting that environmental factors and geographic isolation influence wing shape. In contrast, *C. maruim*, *C. paucienfuscatus*, and *C. insignis* showed no significant differences, indicating greater population homogeneity, possibly associated with gene flow and passive dispersal. Geometric morphometrics proved to be an effective tool for detecting subtle variations and understanding population patterns in *Culicoides*. The results provide important insights for taxonomic, ecological, and entomological surveillance studies and contribute to vector control strategies in coastal regions of Maranhão.

Keywords: Biting midges; Biological vector; Population variation; Biogeography; Maranhão.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Caracteres morfológicos dos maruins	17
Figura 2. Ciclo de vida e fases de desenvolvimentos dos <i>Culicoides</i>	19
Figura 3. Ambientes de procriação e hábitat de imaturos de <i>Culicoides</i>	20
Figura 4. Mapa de localização das áreas de coleta de <i>Culicoides</i> na Ilha do Cajual e em Cujupe, município de Alcântara, Maranhão, Brasil	26
Figura 5. Armadilhas luminosas CDC em abrigos animais e manguezal	28
Figura 6. Asa de <i>Culicoides foxi</i> com os 13 pontos de landmarks utilizados na análise morfométrica	30
Figura 7. Distribuição dos semilandmarks utilizados na análise morfométrica das manchas alares das espécies de <i>Culicoides</i>	31
Figura 8. Gráfico de dispersão da Análise de Variáveis Canônicas (CVA) das espécies de <i>Culicoides</i>	37
Figura 9. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para <i>Culicoides foxi</i>	40
Figura 10. Histogramas da CVA, Função Discriminante e Validação Cruzada para <i>Culicoides foxi</i>	41
Figura 11. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para <i>Culicoides leopoldoi</i>	42
Figura 12. Histogramas da CVA, Função Discriminante e Validação Cruzada para <i>Culicoides leopoldoi</i>	43
Figura 13. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para <i>Culicoides guyanensis</i>	44
Figura 14. Histogramas da CVA, Função Discriminante e Validação Cruzada para <i>Culicoides guyanensis</i>	45
Figura 15. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para <i>Culicoides maruim</i>	46

Figura 16. Histogramas da CVA, Função Discriminante e Validação Cruzada para <i>Culicoides maruim</i>	47
Figura 17. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para <i>Culicoides paucienfuscatus</i>	48
Figura 18. Histogramas da CVA, Função Discriminante e Validação Cruzada para <i>Culicoides paucienfuscatus</i>	49
Figura 21. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para <i>Culicoides insignis</i>	50
Figura 20. Histogramas da CVA, Função Discriminante e Validação Cruzada para <i>Culicoides insignis</i>	51

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Lista de espécies do gênero <i>Culicoides</i> , de acordo com os subgêneros e os grupos taxonômicos na Ilha do Cajual e no Cujupe	34
Quadro 2. Coordenadas da configuração média dos 13 landmarks da asa de <i>Culicoides</i> maruim após o ajuste de Procruste	35
Quadro 3. Variação entre os grupos, escalados pelo inverso da variação dentro dos grupos.....	36
Quadro 4. Distância de Mahalanobis entre os grupos de <i>Culicoides</i>	38
Quadro 5. Distância de Procrustes entre grupos de <i>Culicoides</i>	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 Classificação, distribuição, diversidade e nomes populares.....	15
2.2 Morfologia.....	16
2.3 Ciclo de Vida.....	18
2.4 Importância Médico, Veterinária e Econômica.....	20
2.5 Estudos sobre Culicoides realizados no Maranhão.....	21
2.6 Morfometria.....	22
3. JUSTIFICATIVA.....	24
4. OBJETIVOS.....	25
4.1 Geral.....	25
4.2 Específicos.....	25
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
5.1 Área de Estudo.....	25
5.2 Procedimentos em campo.....	27
5.3. Procedimento de laboratório.....	28
5.4. Seleção das espécies e dos exemplares.....	28
5.5 Montagem das Lâminas.....	29
5.6 Análise em Morfometria Geométrica.....	29
5.6.1 Seleção dos marcos anatômicos (landmarks).....	29
5.6.2 Análise utilizando semilandmarks.....	30
5.6.3 Aquisição das imagens.....	32
5.6.4 Marcações dos Pontos.....	32
5.7 Análises Estatísticas.....	32
6. RESULTADOS.....	34
6.1. Ajustes de Procrustes.....	34
6.2. Análise Variáveis Canônicas.....	36
6.3. Teste Global e Distâncias Morfológicas.....	38
6.4. Análise de conformação alar entre mesmas espécies de Culicoides da Ilha do Cajual e Cujupe.....	39
7. DISCUSSÃO.....	52
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55
9. REFERÊNCIAS.....	57

1. INTRODUÇÃO

A ordem Díptera reúne um grupo de insetos que apresenta uma grande relevância ecológica, médica e veterinária. Além desses aspectos, cada vez aumenta a gama de estudos devido à sua participação em diversos processos ambientais e sem contar em transmissões de agentes patogênicos que acometem os seres humanos e os animais.

Dentro desse grupo dos dípteros destaca-se a família Ceratopogonidae por sua elevada diversidade biológica e uma ampla distribuição geográfica, o que proporciona o interesse em pesquisas relacionada à ecologia, taxonomia, sistemática e dinâmica populacional desses insetos (Gusmão *et al.*, 2019; González *et al.*, 2024).

Entre os representantes pertencentes aos ceratopogonídeos, destaca-se o gênero *Culicoides* Latreille, 1809 por abranger espécies hematófagas conhecidas popularmente como maruim, mosquito-pólvora ou mosquito do mangue. Esses dípteros apresentam pequeno porte e hábito hematofágico que é realizado pelas fêmeas. Estas necessitam realizar o repasto sanguíneo para a maturação dos seus ovos. Para isso, elas buscam diferentes grupos de vertebrados que funcionam como fonte alimentar. Devido a esse comportamento, algumas espécies possuem relevância epidemiológica, atuando na transmissão de vírus, protozoários e helmintos de interesse para a saúde pública e veterinária (Kampen; Werner, 2023).

Com ocorrência predominante em ambientes úmidos, os *Culicoides* podem ser encontrados em manguezais, restingas, áreas florestais e regiões alagadas. A ocorrência desses insetos está relacionada a fatores ambientais, como: temperatura, disponibilidade de materiais orgânicos, umidades e presença de hospedeiros, são condições que influenciam diretamente na abundância e na dispersão das populações (Mellor; Boorman; Baylis, 2000; Harrup *et al.*, 2013).

As alterações ambientais estabelecidas ao longo do tempo podem impactar os habitats e a ecologia desses insetos, influenciando características comportamentais e morfológicas. Essas mudanças podem promover diferenciações intra e interpopulacionais, refletindo em variações fenotípicas detectáveis por meio da morfometria geométrica (Bookstein, 1991; Ogola *et al.*, 2024). Estudos também têm

demonstrado que isolamento em ilhas ou isolamentos geográficos podem favorecer mudanças fenotípicas de populações de insetos (Mayr, 1963; Macarthur; Wilson, 1967;).

Diante do exposto, procurou-se verificar se há diferenças morfológicas entre populações de *Culicoides* distribuídas em áreas de manguezais e bosques de terra firme da Ilha do Cajual e da localidade de Cujupe, no município de Alcântara Maranhão, separadas geograficamente por um estuário de aproximadamente 400 metros de largura.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Classificação, distribuição, diversidade e nomes populares

O gênero *Culicoides* Latreille, 1809, está classificado dentro do grupo dos dípteros da subordem Nematocera, infraordem Culicomorpha, superfamília Chironomoidea e família Ceratopogonidae (Borkent; Dominiak, 2020). No Brasil, de um modo geral, estes insetos são conhecidos como maruins, mosquitos pólvora e mosquito do mangue (Forattini *et al.*, 1958).

A família Ceratopogonidae está dividida em cinco subfamílias, sendo duas representadas por táxons extintos e as outras três representadas por táxons atuais. A subfamília Ceratopogonidae subdivide-se em 6 tribos, sendo que a tribo Culicoidini compreende o gênero *Culicoides*, um grupo de grande interesse ecológico e na saúde pública (Borkent; Dominiak, 2020).

Quanto à diversidade, os *Culicoides* constituem um dos maiores grupos de dípteros conhecidos, contendo mais de 1.400 espécies formalmente descritas (Borkent; Dominiak, 2020). Eles ocorrem em todo o mundo, exceto na Antártica e Nova Zelândia e são genericamente conhecidos como *biting midges* (Borkent e Dominiak, 2016).

Na Região Neotropical já foram catalogadas cerca de 280 espécies, das quais 146 ocorrem no Brasil e destas 122 distribuem-se na Amazônia (Farias *et al.*, 2015; Santarém; Felipe-Bauer, 2017). No Maranhão, estudos recentes sobre maruins revelam a ocorrência de aproximadamente 45 espécies (Bandeira *et al.*, 2017; Rebêlo *et al.*, 2016; Rios *et al.*, 2021, Jesiel *et al.*, 2025). A elevada diversidade do gênero torna fundamental o conhecimento de suas características morfológicas para a correta identificação da espécie.

2.2 Morfologia

Os maruins são insetos de pequeno porte, medindo entre 1 a 3 mm (Figura 1A) de comprimento e como díptero, possuem apenas um par de asas funcionais (as anteriores); o segundo par é atrofiado e modificado em estruturas chamadas halteres ou balancins, que atuam como giroscópios para garantir o equilíbrio e a estabilidade durante o voo (Borkent, 2015).

A cabeça é subesférica (figura 1B), ligeiramente comprimida anteriormente, alinhada com a superfície anterior da probóscide. Olhos compostos (Figura 1B) volumosos, reniformes, glabros ou com uma curta pilosidade entre os omatídios, juntos ou (menos frequentemente) separados por cima das bases das antenas. O grau de separação ou de contato dos olhos é utilizado habitualmente para distinguir as espécies (Wirth;Blanton, 1979).

As antenas apresentam três segmentos principais: escopo basal, em formas de anel e incluído uma cápsula cefálica; o pedicelo, volumosos e de função sensorial; e o flagelo, dividido em 13 flagelômeros. O primeiro flagelômero é ligeiramente alargado e possui fossas sensoriais distais, onde se encontram as sensilas coelocônicas, cada uma rodeada por pequenas setas. Alguns ou todos os flagelômeros distais também podem portar essas sensilas, cuja presença, ausência e número constituem caracteres de grande importância para a classificação taxonômica do gênero (Wirth;Blanton, 1979; Borkent, 2016a).

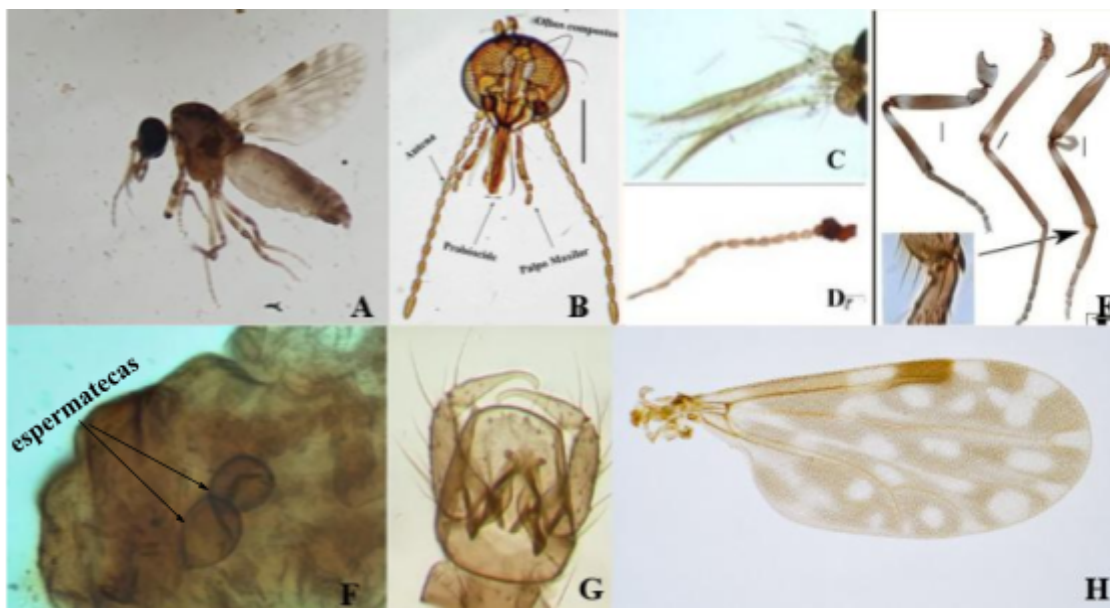


Figura 1: Caracteres morfológicos de *Culicoides* sp. **A:** *Culicoides guyanensis* adulto; **B:** Cabeça evidenciando olhos compostos e peças bucais; **C:** Par de antenas de macho com estruturas segmentadas; **D:** antena da fêmea; **E:** pernas anterior, média e posterior; **F:** Final do abdômen fêmea, com espermatecas; **G:** Genitália do macho; **H:** Asa com disposição de manchas claras e escuras. **Fonte:** Adaptado de L.P.C. Carvalho (2016).

No macho (Figura 1C), o pedicelo é mais volumoso e contém o órgão de Johnston, de função sensorial; cada um dos flagelômeros 1-10 levam verticilos de sensilas caéticas alongadas, e retas, formando um penacho mais o menos denso; a transição do comprimento entre os flagelômeros tem lugar aqui, entre os flagelômeros 10 e 11; no macho, a RA se calcula dividindo o comprimento combinado dos flagelômeros 11-13 pela dos flagelômeros 1-10 (Felippe-Bauer, 2010). Nas fêmeas (figura D), os flagelômeros 1 a 8 são curtos e apresentam longos verticilos sub-basais de sensilas caéticas, enquanto que os flagelômeros 9-13 são alongados e carecem de verticilos; a relação antenal (RA) expressa o quociente entre o comprimento combinado dos flagelômeros 9-13 e a dos flagelômeros 1-8. O dimorfismo sexual pode ser percebido pelas antenas. No macho, os 8 primeiros flagelômeros possuindo cerdas plumosas, enquanto nas fêmeas, apresenta apenas cerdas pilosas, e assim torna a visualização mais fácil entre os sexos.

O tórax é bem desenvolvido e curvado sobre a cabeça, conferindo robustez ao corpo. As pernas (Figura 1E) são relativamente curtas, especialmente as anteriores, e apresentam coloração variando entre cinzento, acastanhado, branco e preto, em geral

sem aspecto brilhante. Essas características são utilizadas como critério diagnósticos em estudos taxonômicos e de identificação de espécies (González *et al.*, 2024).

O abdome apresenta diferenças marcantes entre os sexos: nas fêmeas, a terminália é curta e adaptada para a postura dos ovos, enquanto nos machos é protuberante, associada às estruturas genitais externas. O abdome é composto por dez segmentos visíveis, sendo os últimos modificados para funções reprodutivas. Nas fêmeas (Figura 1F), destacam-se as espermatecas, que armazenam o esperma após a cópula, permitindo a fecundação posterior dos ovos. Nos machos (Figura 1G), estruturas como o edeago e os gonóstilos variam de forma e tamanho entre as espécies, constituindo uma característica diagnóstica importantes. Após os repastos sanguíneos, as fêmeas apresentam dilatação abdominal visível, relacionada ao enchimento do estômago médio, característica frequentemente utilizada em estudos ecológicos e epidemiológicos (Mellor *et al.*, 2000; Carvalho, 2016).

As asas (Figura 1H) são densamente cobertas por microtríquias, o tamanho e pigmentação das quais dão lugar ao característico desenho de áreas claras e escuras; microtríquias mais ou menos abundantes, algumas vezes cobrindo toda a membrana da asa, outras vezes restritas a determinadas zonas, e na minoria dos casos, ausentes. O desenho de áreas claras e escuras é característico para cada espécie, o ao menos para cada subgênero ou grupo de espécies, e é de importância na taxonomia do gênero, em algumas espécies ou grupos, este desenho se encontra pobremente desenvolvido ou carecem de desenho. Em algumas espécies ou grupos, este desenho se encontra pobremente desenvolvido ou ausente. Nos machos, a asa é mais estreita e fina do que na fêmea e o desenho da asa é menos contrastante (Wirth;Blanton, 1979; Cepeda, 2010). É por meio das asas que podemos realizar a identificação das espécies e diferenciar cada uma conforme a disposição de manchas presentes nas asas.

2.3 Ciclo de Vida

O ciclo de vida dos maruins, assim como de todos os dípteros, é holometábolo, ou seja, possuem metamorfose completa passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adultos (Figura 3). O ciclo tem duração de até três semanas em climas tropicais e pode atingir um ano em climas temperados (Borkent; Spinelli, 2007).

Os ovos têm aproximadamente 400 µm de comprimento por 50 µm de largura na forma de um elipsoide curvado, semelhante ao formato de uma banana. Normalmente são postos em lotes que aderem ao substrato (troncos de árvores, cascas de cacaueiros, esterco animal, bancos de areia, etc.) ou podem ficar sob a coluna d'água em ambientes aquáticos, eclodindo entre dois a nove dias, a depender da espécie e da temperatura (Blanton ;Wirth, 1979).

As larvas e pupas se desenvolvem em ambientes semiaquáticos, abundantes em matéria orgânica como: mangues, rios, poças, brejos, praias, pântanos, solos alagados, além de buracos em árvores, fezes de animais, cascas de árvores, frutas em decomposição entre outros ambientes (Forattini *et al.*, 1957; Mellor *et al.*, 2000, Diaz & Ronderos, 2015; Borkent, 2014; Ferreira-Keppler *et al.*, 2014). Geralmente as fêmeas adultas têm a necessidade de uma refeição de sangue com o propósito de amadurecimento de seus folículos ovarianos (Mellor *et al.*, 2000).

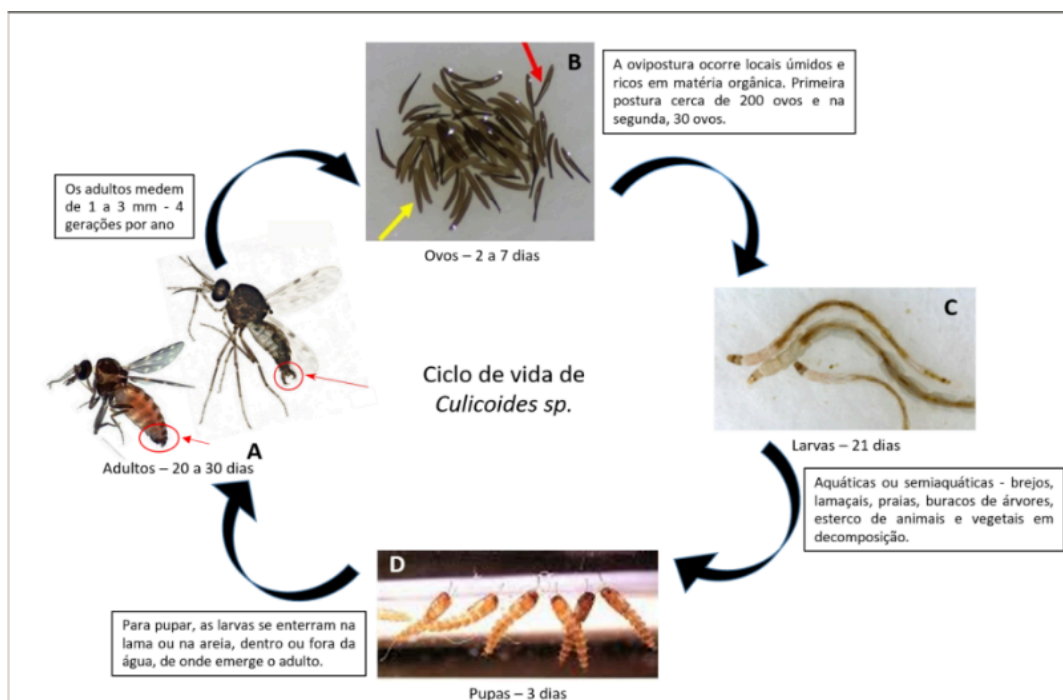


Figura 2: Ciclo de vida e fases de desenvolvimentos dos *Culicoides sp.* Fonte: Adaptado de Purse *et al.*, 2005.

Os adultos podem ser encontrados em ambientes florestais úmidos, em praias, montanhas e mangues (Figura 4), bem como em abrigos de animais domésticos de zonas rurais, periurbanas e urbanas (Farias *et al.*, 2015). Eles ocorrem em diversos

ecótopos para obtenção de alimento e utilização como criadouros, como inflorescência de *Heliconia* sp (helicônia), cascas de frutos de *Theobroma cacao* Linn. (cacau), troncos de *Musa paradisiaca* Linn. (bananeira) em decomposição, *Guzmania brasiliensis* Ule (bromélias) e serrapilheira (Torreias; Ferreira-Kepler, 2011).



Figura 3: Ambientes de procriação e hábitat de imaturos de *Culicoides*. A: mangue; B: solo encharcado; C: esterco bovino; D: bananal. Fonte: Adaptado de L. P. C. Carvalho

2.4 Importância Médico, Veterinária e Econômica

Os maruins são bastante conhecidos pela sua importância como vetores de agentes patogênicos que afetam os humanos. Isso se deve ao hábito hematofágico das fêmeas, pois necessitam de sangue para a maturação de seus ovos. Algumas espécies como a dos *Culicoides paraensis* Goeldi, 1905 transmite o vírus Oropouche que causou mais de 30 surtos na Amazônia e nas regiões do Planalto Central, chegando a atingir 100 mil infecções em humanos em alguns surtos (Vasconcelos *et al.*, 2009). Além disso,

esses insetos podem atuar na transmissão de nematóides como as filárias *Mansonella ozzardi* (Manson, 1987) causadora da mansonelose, incidente na América Central, no Caribe e na América do Sul (Santarém *et al.*, 2010). Por vezes a picada dos maruins provoca desconforto, insônia, irritabilidade e reações alérgicas, impactando na saúde pública em regiões endêmicas.

Na medicina veterinária, os maruins são conhecidos principalmente por seu papel na transmissão de viroses. São exemplos, o vírus da língua azul (Bluetongue vírus) que acomete os ruminantes, especialmente ovinos, causando febre, lesões na mucosa oral (língua) e elevada mortalidade; o vírus da peste equina africana (African Horse Sickness Vírus) e o vírus da doença hemorrágica epizootica (Epizootic Hemorrhagic Disease Virus) (Mellor *et al.*, 2000). O vírus da Língua Azul (VLA) é um vírus do gênero *Orbivirus*, subfamília Sedoreovirinae família Reoviridae. Até hoje foram identificados 24 sorotipos desse vírus (Maclachlan *et al.*, 2019), ocorrendo nas Américas, África (centro oriental), Índia, China, Sudeste da Ásia, Austrália e agora na Europa. Segundo a Organização Internacional de Epizootias, esta é uma doença notificável, cujo impacto econômico decorre não apenas das perdas diretas nos rebanhos afetados, mas também das restrições econômicas impostas por países importadores. No Brasil, o VLA tem se alastrado silenciosamente. (Farias *et al.*, 2013). O vírus foi isolado no ano de 1960, em Belém do Pará, em amostras do sangue de um bicho preguiça *Bradypus tridactylus* (Pinheiro, 1962).

A infecção desses vírus em grandes proporções afeta as áreas rurais e gera um grande estresse nos animais, além de problemas econômicos, reduzindo a produtividade e o bem-estar, o que requer um controle dos vetores dessas doenças, prioritário para o sistema de produção dos animais (Borkent, 2005).

Além do impacto causado por essas doenças virais transmitidas pelos maruins, em regiões turísticas, a grande abundância desses insetos pode afetar negativamente a experiência dos visitantes, prejudicando o setor de ecoturismo da região. Portanto, o impacto econômico que os maruins podem gerar de maneira direta ou indireta é significativo, em decorrência de sua presença em locais onde podem proliferar rapidamente. Eles de fato representam um desafio que transcende a biologia, impactando diretamente a saúde pública, a produção animal e a economia regional.

2.5 Estudos sobre *Culicoides* realizados no Maranhão

A trajetória de pesquisas sobre *Culicoides* no Maranhão iniciou-se com o inquérito entomológico de Silva e Rebêlo (1999), voltado para o conhecimento da composição e distribuição das espécies dos maruins. A partir desse marco inicial, Barros & Marinho (2007) registraram a ocorrência de espécies na área metropolitana de São Luís, ampliando o conhecimento sobre a diversidade desses insetos na região.

Nas décadas seguintes, diversas pesquisas passaram a explorar os aspectos da ecologia deste grupo de insetos em diferentes ambientes. Costa *et al.* (2013) analisaram os maruins e seus hospedeiros potenciais em áreas de ecoturismo no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Silva & Carvalho (2013) exploraram os aspectos ecológicos das populações de áreas de cerrado e restinga. Nos últimos anos, os estudos e publicações sobre maruins no Maranhão passaram a explorar novas perspectivas. Como por exemplo, os estudos realizados por Gusmão *et al.* (2015), que investigou as fontes de alimentação sanguínea de *Culicoides* em áreas rurais do norte do estado. Além disso, alguns estudos conduzidos por Bandeira *et al.* (2016; 2017) investigaram a infestação peridomiciliar na baixada ocidental maranhense e avaliaram a influência da gestão ambiental e da presença de abrigos de animais no controle das populações. E nesse mesmo período, o Rebêlo *et al.* (2016) discutiram a grande possibilidade de os maruins atuarem como vetores de *Leishmania*, enquanto Bandeira (2017) apresentou uma análise bioecológicas detalhadas, destacando a importância epidemiológica dos maruins e propondo estratégias para controle.

Em estudos mais recentes, o uso de ferramentas moleculares têm facilitado a identificação desses insetos. Bandeira *et al.* (2023) aplicaram o estudo de DNA *barcoding* em populações de maruins no Maranhão, demonstrando a eficácia do gene mitocondrial para diferenciar espécies crípticas.

Mesmo com os avanços recentes na produção de publicações, o panorama científico sobre os maruins no Maranhão carece de estudos mais aprofundados, sobretudo em regiões do estado onde ainda existem lacunas e os maruins sequer foram identificados, o que torna indispensável ampliar as pesquisas para revelar a verdadeira diversidade desse grupo.

2.6 Morfometria

A morfometria (do grego, “*Morphe*” = forma; palavra grega “*metron*” = medida) é definida como um subcampo da estatística que se dedica ao estudo quantitativo do tamanho e da forma dos organismos (Dryden; Mardia, 2016). Sua aplicação é ampla, incluindo análises de desenvolvimento, investigação de covariância relacionadas a perturbações ambientais e estudos taxonômicos de fósseis (Bookstein, 1991). Desde os anos 90, emergiram novas técnicas inovadoras que ampliaram a capacidade de descrever a diversidade de formas em estruturas morfológicas, considerando diferenças intergrupais e intragrupais (Monteiro & Reis, 1999; Dujardin, 2008).

A morfometria, divide-se em duas abordagens principais: morfometria tradicional e morfometria geométrica. Ambos medem características físicas, mas fazem isso de jeitos diferentes. A morfometria tradicional é fundamentada pelo estudo da variação de medidas entre pontos anatômicos (*landmarks*) homólogos, de forma que a distância seja linear (Zelditch et al., 2012). Contudo, as análises que fazem a utilização desta técnica não absorvem muita informação do organismo. Usa medidas diretas como comprimento, largura, ângulos e peso (Rohlf; Marcus, 1993). Apesar de rápida e fácil de usar, ela perde a "imagem" da forma. Ao medir-se apenas o comprimento e a largura de uma estrutura, sabe-se o tamanho dela, mas não se sabe se ela é oval, redonda ou pontuda. A morfometria geométrica é apoiada utilizando-se coordenadas cartesianas de marcos anatômicos e métodos de superposição para alcançar a configuração desses pontos homólogos (Pereira, 2020). Esse método preserva toda a geometria, se consegue analisar exatamente como a forma muda, entorta ou se adapta. É muito usada para ver evolução de espécies, assimetria de asas de insetos ou variações de outras estruturas (Bookstein, 1991).

A morfometria geométrica é caracterizada por uma nova abordagem de estudo para variações morfológicas. Apontado como um método importante em análises taxonômicas e sistemáticas de insetos de interesse em saúde pública (Dujardin, 2008). De acordo com Lyra *et al.* (2010), as principais vantagens da utilização dessa técnica são: a velocidade da coleta de material, pois várias imagens podem ser digitalizadas e analisadas de forma rápida; baixo custo do processo; material pode ser obtido tanto de exemplares secos quanto frescos. Diante disso, esta técnica possibilita uma análise mais

específica em relação às formas das estruturas e pode apresentar graficamente de um jeito que traga uma maior precisão nas divisões da região a ser analisada.

3. JUSTIFICATIVA

O gênero *Culicoides* é amplamente reconhecido pela sua importância médica e veterinária, pois diversas espécies são vetores de arboviroses que afetam em grande escala os animais domésticos e silvestres, mas também os seres humanos. No Brasil, tem uma grande diversidade desses insetos, mas a identificação das espécies de forma precisa ainda enfrenta desafios. O pequeno porte e a semelhança morfológicas entre as espécies causa um pouco de confusão para identificá-las. Nesse contexto, a aplicação da morfometria geométrica alar surge como uma ferramenta que traz o potencial para diferenciar populações, o que pode contribuir para o avanço da entomologia médica e da vigilância epidemiológica.

A morfometria geométrica alar permite detectar variações sutis na forma das asas, que fornece dados quantitativos e complementa os estudos taxonômicos tradicionais. Essa técnica já demonstrou resultados significativos de outros dípteros, na identificação, na diferenciação populacional e possíveis adaptações ecológicas, como os mosquitos do gênero *Aedes* e *Culex*, (Souza, 2020; Lima, 2021). Com isso, a aplicação dessa abordagem para *Culicoides* vai representar uma oportunidade de ampliar os conhecimentos sobre maior diversidade morfológica e as estruturas populacionais desses insetos no Maranhão.

A escolha da Ilha do Cajual e do Cujupe para a aplicação da análise morfométrica dos maruins deu-se ao fato de ambas as localidades apresentarem elevada ocorrência de *Culicoides* e estarem separadas por um estuário de 400 metros de largura. A Ilha do Cajual tem a sua importância, por ser marcada pelo seu isolamento geográfico, fator que pode influenciar no processo de diferenciação morfológica em populações de maruins. O Cujupe por ser situado no continente e caracterizado por intenso fluxo de pessoas e atividades econômicas, é um ambiente com probabilidade de dispersão e misturas de populações. A continuidade dos habitats costeiros, a disponibilidade de hospedeiros e a presença de áreas favoráveis ao desenvolvimento

desses insetos podem contribuir para o deslocamento de indivíduos e, consequentemente, para a manutenção do fluxo gênico entre populações próximas. Ao comparar essas duas localidades pretende-se avaliar a possível influência do isolamento insular e em contrapartida a relação da conectividade do continente na morfologia das asas dos insetos.

Dessa forma, essa monografia têm uma relevância científica, metodológica e aplicada, unindo-se os avanços na morfometria geométrica com a capacidade de alinhar a distinção entre as populações insulares e continentais, verificando as características que mais distingue esses vetores nas regiões, valorizando os estudos em áreas do Maranhão.

4. OBJETIVOS

4.1 Geral

Analisar a variação morfológica alar interpopulacional e intraespecífica de *Culicoides* insular e continental.

4.2 Específicos

Comparar os padrões morfológicos dos marcos anatômicos das asas de *Culicoides* da Ilha do Cajual e no Cujupe;

Quantificar o grau de variação fenotípica intra e interpopulacional entre os grupos de *Culicoides* das duas áreas de estudo;

Relacionar as diferenças nos marcos anatômicos e nos contornos entre os grupos de *Culicoides*, identificando os padrões de separação morfológicos.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Área de Estudo

Os maruins utilizados para este estudo foram coletados na Ilha do Cajual e Cujupe, duas localidades pertencentes ao município de Alcântara, estado do Maranhão, Brasil (Figura 5). Esta unidade municipal situa-se na Mesorregião do Norte Maranhense, em especial nas microrregiões do Litoral Maranhense Ocidental. Possui

uma área territorial de 1.167,9 km² e uma população estimada de 18.467 habitantes, com uma densidade demográfica de 15,81 hab./km² (IBGE, 2022).

A Ilha do Cajual localiza-se na região sudeste do município de Alcântara, na Baía de São Marcos (02°25'36"S e 44°26'47"W). Está inserida na unidade geomorfológica intitulada Golfão Maranhense cuja predominância geológica é evidenciada pela formação Itapecuru, Grupo Barreiras e aluviões fluviomarinhas (Pereira *et al.*, 2010). Além disso, a ilha é considerada o maior sítio paleontológico brasileiro e de riqueza de fósseis, onde já foram encontradas várias espécies de animais e plantas (Carvalho *et al.*, 2007). Os aspectos físicos da Ilha são caracterizados por colinas arredondadas de baixas altitudes, além de pequenas áreas rebaixadas localizadas na porção norte, onde predominam os manguezais. A vegetação da região inclui florestas de babaçu (*Attalea speciosa* Max. ex Sprend.), matas secundárias (capoeiras), manguezais e restingas, conforme descrito por Santos et al. (2012). No que diz respeito à fauna, a Ilha apresenta uma biodiversidade significativa, influenciada pelo ecossistema de manguezais e pela floresta preservada. No entanto, até o momento, não há registros de estudos sistemáticos para identificação e catalogação detalhada da fauna e flora da área.

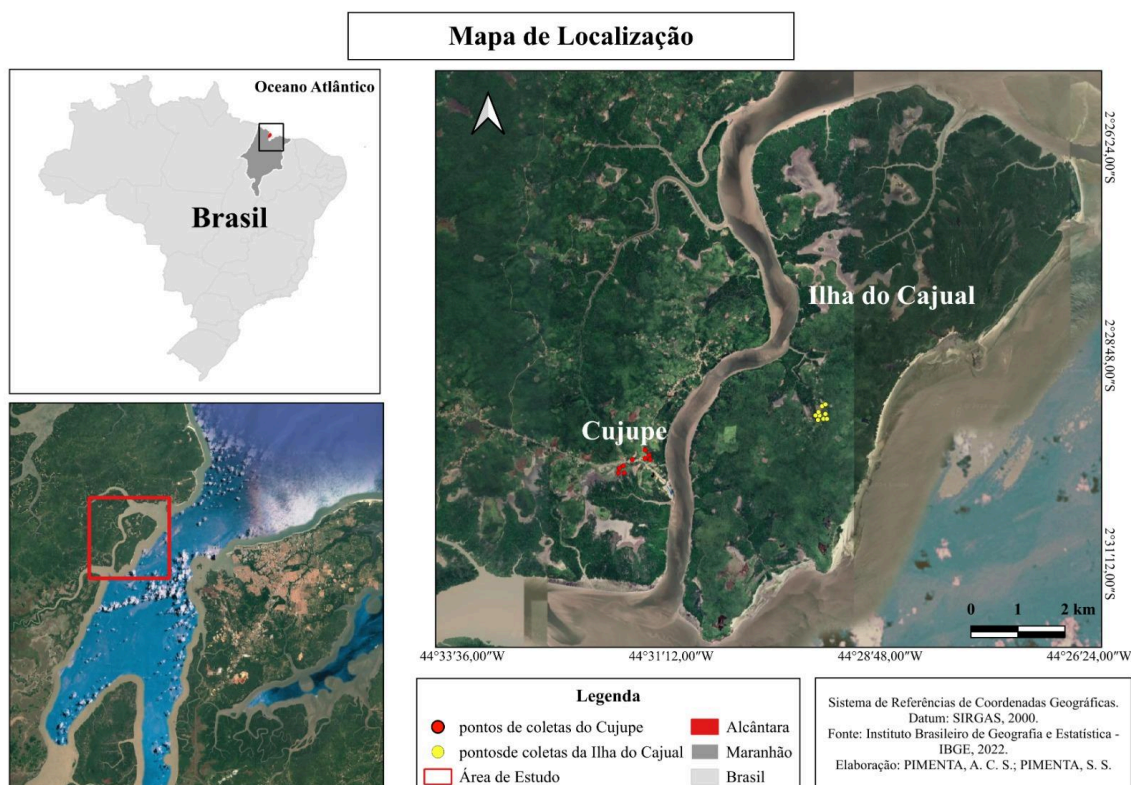


Figura 4: Mapa de localização das áreas de coleta de *Culicoides* na Ilha do Cajual e em Cujupe, município de Alcântara, Maranhão, Brasil. **Fonte:** Pimenta *et al.*, 2025.

O Cujupe está localizado na região sudeste do município de Alcântara (2°30'21,93"S e 44°31'12,57"W). Esta localidade é de grande importância socioeconômica por dar lugar ao terminal de ferry-boat do Cujupe, que recebe embarcações vindas do terminal de ferry-boat da Ponta da Espera, em São Luís, realizando a Travessia entre São Luís e a Baixada Maranhense, e sendo administrado pela Empresa Maranhense de Administração Portuária -EMAP (Pimenta, 2025). A vegetação do Cujupe é caracterizada por extensas áreas de manguezais, acompanhadas por espécies menos comuns, como juçareiras (*Euterpe edulis* Mart.) e buritizeiros (*Mauritia flexuosa* L. f.), entre outras. A fauna, por sua vez, apresenta uma rica biodiversidade, especialmente de animais marinhos, influenciada pelo ecossistema de manguezal.

5.2 Procedimentos em campo

Para a captura dos maruins utilizou-se armadilhas CDC tipo HP (Pugedo et al. 2005), equipadas com luz de LED (*light-emitting diode*) de 520 nm, que tem mostrado grande eficiência na atração de maruins (Silva *et al.*, 2015). As armadilhas foram instaladas em abrigos de animais domésticos e no manguezal (Figura 6), onde eram instaladas nos ramos das árvores. Foram utilizadas 9 armadilhas em cada área, instaladas no curral bovino (1), chiqueiro de porcos (1), galinheiros (3) e no mangue (4). Cada armadilha funcionou durante 12 horas ininterruptas, das 18 às 6 horas do maranhão, uma vez a cada dois meses, de fevereiro de 2023 a dezembro de 2024, totalizando 12 coletas, sendo seis na estação chuvosa e seis na estação de estiagem. O esforço de captura foi de 9 armadilhas x 12 horas x 12 meses = 1.296 horas no total. Após as coletas os maruins foram sacrificados em câmaras de gás de acetato de etila, transferidos para potes de polietileno e conduzidos ao Laboratório de Entomologia e Vetores (LEV-UFMA).



Figura 5: Armadilhas luminosas CDC em abrigos de animais e manguezal. **A:** galinheiro; **B:** chiqueiro; **C:** curral; e **D:** manguezal. **Fonte:** Pimenta, 2023.

5.3. Procedimento de laboratório

No laboratório os maruins foram triados dos demais insetos, com auxílio de estereomicroscópio. Posteriormente foram identificados com uso de chaves dicotômicas (Wirth;Blanton, 1973; Wirth *et al.* 1988; Spinelli *et al.* 2005). Os maruins foram acondicionados em micro tubos contendo álcool 70% na Coleção Entomológica do Laboratório de Entomologia e Vetores (LEV - UFMA), com as seguintes informações: data, local de coleta, abrigo de animais e outros ecótonos.

5.4. Seleção das espécies e dos exemplares

Foram selecionadas espécies de *Culicoides* provenientes das localidades Ilha do Cajual e Cujupe, considerando como critérios: a ocorrência nas duas áreas de estudo, permitindo comparações interpopulacionais e intraespecífica, a representatividade das espécies nas amostras coletadas e a disponibilidade de exemplares com asas em bom

estado de conservação, sem danos ou deformações que pudessem interferir nas análises morfométricas.

Com base nesses critérios, foram selecionadas seis espécies: *Culicoides guyanensis*, *C. insignis*, *C. leopoldoi*, *C. foxi*, *C. maruim* e *C. paucienfuscatus*, por apresentarem maior frequência de ocorrência e representatividade nas amostras analisadas das duas localidades. A escolha dessas espécies permitiu avaliar possíveis padrões de variação da forma alar associados às diferenças ambientais entre uma área insular e uma área continental.

Para cada espécie foram selecionados 36 exemplares fêmeas, sendo 18 indivíduos provenientes da Ilha do Cajual e 18 do Cujupe, totalizando 216 asas analisadas. Esse número amostral foi estabelecido considerando a disponibilidade de exemplares em condições adequadas para a análise, a necessidade de padronização entre os grupos comparados e a recomendação de utilização de amostras equilibradas em análises de morfometria geométrica.

5.5 Montagem das Lâminas

Em um primeiro momento, foi realizada a clarificação das estruturas dos exemplares de maruins, os quais foram colocados em vidro de relógio com lactofenol (“umidecer” um pouco o inseto, para retirar as asas). Após decorrido uma hora, desprende-se as asas do tórax e transferiu-se para a lâmina de vidro, adicionou-se Berlese cobrindo-se finalmente com a lamínula.

O processo de montagem das lâminas foi realizado com um auxílio de uma lupa estereomicroscópio, um vidro de relógio, uma seringa pequena para auxiliar no corte das estruturas, uma pinça (para auxiliar na colocação das lamínulas), as lâminas e as lamínulas já cortadas e previamente selecionadas em solução detergente (10%) e posteriormente lavadas em água corrente e todas acondicionadas em um recipiente (pote coletor) com álcool absoluto para retirar qualquer sujeira que pudesse contaminar o material e prejudicar a visualização das estruturas (Spinelli et al., 2005).

5.6 Análise em Morfometria Geométrica

5.6.1 Seleção dos marcos anatômicos (landmarks)

A análise da forma das asas foi realizada por meio da morfometria geométrica bidimensional, utilizando marcos anatômicos (landmarks) definidos em pontos

homólogos das asas dos exemplares de *Culicoides*. Os landmarks correspondem a pontos anatômicos de referência com localização precisa e biologicamente interpretáveis, geralmente associados a junções entre veias ou estruturas fixas da asa, permitindo a comparação da variação da forma entre indivíduos e populações (Bookstein, 1991; Rohlf; Marcus, 1993).

A utilização de landmarks baseia-se no princípio da homologia anatômica, ou seja, os pontos selecionados devem estar presentes e ocupar posições equivalentes em todos os indivíduos analisados. Essa característica assegura a reprodutibilidade da marcação e possibilita que as diferenças observadas refletem nas variações reais na forma das asas, e não inconsistências na obtenção dos dados (Zelditch *et al.*, 2012).

Foram utilizados 13 landmarks anatômicos, distribuídos nas principais interseções das nervuras alares (Figura 7), incluindo regiões associadas às veias Costa (C), Subcosta (Sc), Radial (R), Média (M), Cubital (Cu) e Anal (A). A seleção desses pontos foi baseada em estudos prévios de morfometria geométrica aplicados a dípteros e *Culicoides*, considerando sua capacidade de representar variações interespecíficas e interpopulacionais da conformação alar (ROHLF, 2001; ZANG *et al.*, 2019).



Figura 6: Asa de *Culicoides foxi* com os 13 landmarks que foram delimitados para essa primeira análise morfométrica entre os grupos. **Autora:** Lima, 2026.

5.6.2 Análise utilizando semilandmarks

Além da análise baseada em landmarks anatômicos, foi realizada uma abordagem complementar utilizando semilandmarks, aplicada às regiões de manchas

pigmentares das asas dos *Culicoides*. Diferentemente dos landmarks tradicionais, os semilandmarks são pontos posicionados ao longo de curvas ou contornos, permitindo a representação de variações de forma em estruturas cuja homologia anatômica direta não pode ser estabelecida. Esses pontos são utilizados principalmente em regiões contínuas, nas quais a geometria do contorno apresenta informações relevantes sobre a variação morfológica (Mitteroecker; Gunz, 2009; Gunz; Mitteroecker, 2013).

Os semilandmarks foram distribuídos ao longo dos limites das manchas alares e regiões pigmentadas consideradas relevantes para diferenciação morfológica entre espécies e das populações estudadas (Gunz; Mitteroecker, 2013; Cardini; Seetah, 2017). O número de semilandmarks foi definido de acordo com a complexidade e a extensão do padrão de pigmentação alar de cada espécie, buscando representar adequadamente o contorno das manchas. Assim, foram utilizados 18 semilandmarks em *Culicoides foxi*, 21 semilandmarks em *C. insignis*, 28 semilandmarks em *C. leopoldoi*, 28 semilandmarks em *C. maruim*, 34 semilandmarks em *C. guyanensis* e 32 semilandmarks em *C. paucienfuscatus*, conforme ilustrado na Figura 8.

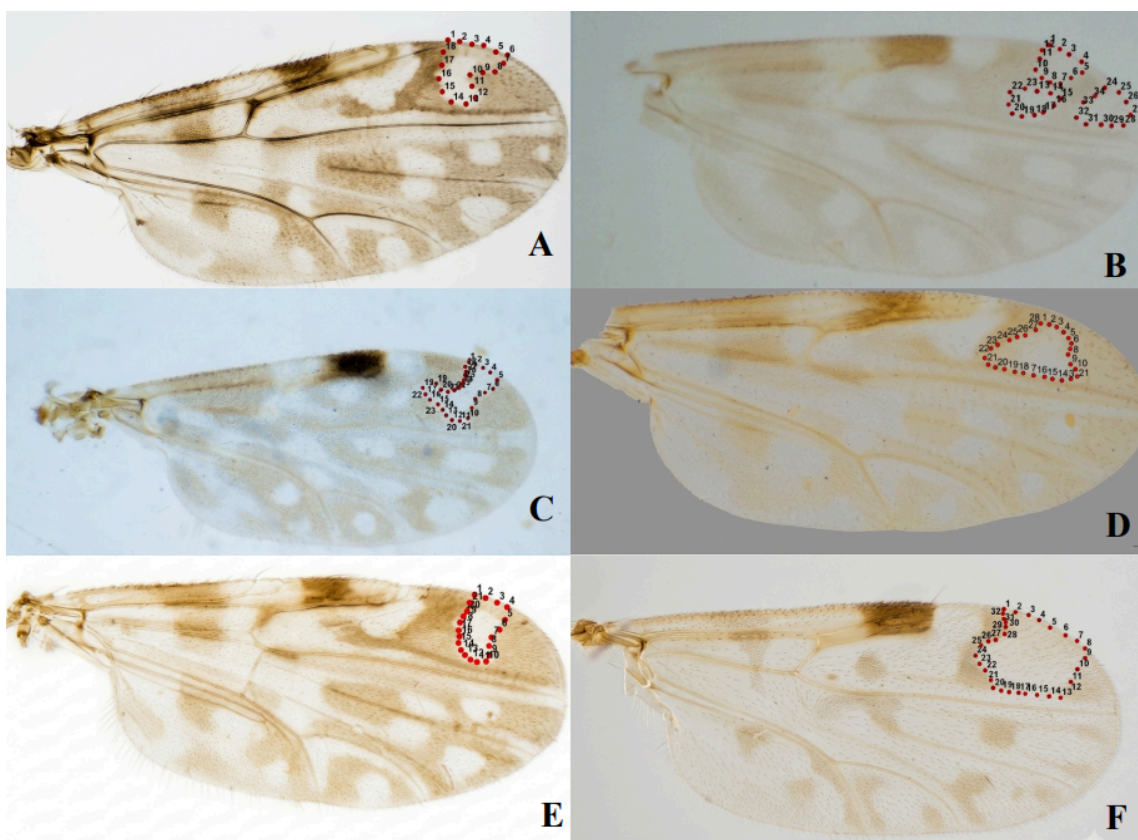


Figura 7. Distribuição dos semilandmarks utilizados na análise morfométrica das manchas alares das espécies de *Culicoides*: **A:** *C. foxi* (18 semilandmarks - na célula r3); **B:** *C. guyanensis* (34 semilandmarks - nas células r1, r2 e r3); **C:** *C. leopoldoi* (28 semilandmarks - célula r3); **D:** *C. maruim* (28 semilandmarks - célula r3); **E:** *C.*

insignis (21 semilandmarks - célula r3); **F:** *C. paucienfuscatus* (32 semilandmarks - célula r3). **Autora:** Lima, 2026.

5.6.3 Aquisição das Imagens: As asas dos indivíduos foram fotografadas em alta resolução, utilizando um estereomicroscópio adaptado para captura de imagens digitais. A técnica de imagem digital para morfometria geométrica é amplamente utilizada em estudos de insetos, garantindo a precisão na coleta de dados (Zelditch *et al.*, 2004). As imagens serão capturadas sob iluminação controlada para reduzir as variações causadas por reflexos ou distorções ópticas.

5.6.4 Marcações dos Pontos: A morfometria geométrica foi aplicada com a utilização de softwares específicos, como o TPSUTIL (Rohlf, 2017), TPSDig ou similar, que permitiram a localização precisa dos marco anatômicos nas asas. Esses softwares permitem a análise estatística das variações geométricas e são fundamentais para a análise de padrões morfológicos (Zelditch *et al.*, 2004). A localização dos pontos será feita de acordo com as diretrizes estabelecidas para o estudo de variação morfológica em *Culicoides*, como descrito em trabalhos de referência (Zang *et al.*, 2019).

5.7 Análises Estatísticas

Os dados coletados foram analisados no software MorfoJ (Klingenberg, 2011), uma ferramenta amplamente utilizada em estudos de morfometria geométrica por permitir a aplicação de diferentes métodos estatísticos voltados à comparação de tamanho e formas biológicas. Esse programa permite o alinhamento, comparação e teste das diferenças morfológicas entre grupos, sendo considerado as referências nos ajustes (Klingenberg, 2011).

Inicialmente, foi realizado o Ajuste Procrustes descrito por Rohlf; Slice (1990) e sistematizado por Dryden; Mardias (1998). Esse método tem como objetivo alinhar os marcos anatômicos de cada indivíduo, retirando os efeitos de tamanho, rotação e posição. Assim, o que permanece são apenas as diferenças relacionadas às variações da forma. Esse alinhamento é fundamental para que as comparações entre espécies ou populações sejam confiáveis e tenham validade estatísticas.

Na sequência, foi realizada a Análise de Variáveis Canônicas (CVA). Essa técnica busca produzir uma ordenação multivariada que maximiza as diferenças entre os grupos pré-definidos (Manthey;Ousley, 2020). Estima o número de indivíduos que podem ser classificados no centro de cada um dos grupos pré-definidos e mutuamente exclusivos, utilizando diferenças na forma média de cada uma das espécies da amostra, bem como outras características (Zelditch;Swiderski;Sheets, 2012). A CVA é especialmente útil em estudos comparativos, pois permite a visualização da separação entre espécie e populações de diferentes localidades.

Para verificar a significância estatística das diferenças encontradas entre os grupos, realizou-se o teste global contra a hipótese nula de ausência de diferenças entre as medidas. Esse procedimento foi conduzido por meio da permutação com 10.000 iterações, o que garante uma confiabilidade sobre os resultados obtidos. Foram utilizadas as seguintes estatísticas: o F de Goodall e o Traço de Pillai, que permitem avaliar se as variações observadas entre os grupos são maiores do que seria esperado ao acaso, assegurando robustez metodológica aos resultados (Goodall, 1991; Pillai, 1955).

Também foram calculadas as distâncias de Mahalanobis, que medem corretamente a posição dos indivíduos em seus respectivos grupos considerando a variância e a covariância dos dados (Mahalanobis, 1936), e as Distâncias de Procrustes que quantifica diretamente a diferença da forma entre as populações depois do alinhamento. Essas medidas fornecem estimativas sólidas para confirmar a magnitude das diferenças morfológicas.

Complementarmente, foi aplicado a Análise de Função Discriminante (DFA) que possibilita a classificação correta dos indivíduos em seus respectivos grupos com base nas variáveis morfológicas. Esse método é amplamente utilizado para estudos comparativos, pois permite verificar o grau de acertos da classificação e identificar possíveis casos de sobreposição entre espécies, populações ou localidades (Fisher, 1936). A validação cruzada (cross-validation) é uma técnica estatística usada para avaliar a capacidade de separação das observações pelo modelo determinado na DFA, a partir de um conjunto de dados. Busca-se então estimar o quão preciso é este modelo na prática, ou seja, o seu desempenho para um novo conjunto de dados (Hastie *et al.*, 2009).

6. RESULTADOS

Foram analisadas as asas 216 fêmeas de *Culicoides*, cada espécie contribuiu com 18 indivíduos por cada localidade, totalizando 36 indivíduos.

Quadro 1. Lista de espécies do gênero *Culicoides*, de acordo com os subgêneros e os grupos taxonômicos na Ilha do Cajual e no Cujupe.

Subgênero/grupo taxonômico	Espécies
Subgênero <i>Hoffmania</i> Fox	<i>C. foxi</i> Ortiz, 1950
	<i>C. insignis</i> Lutz, 1913
	<i>C. maruim</i> Lutz, 1913
Grupo <i>reticulatus</i>	<i>C. guyanensis</i> Floch & Abonnenc 1942
	<i>C. paucienfuscatus</i> Barbosa, 1947
Grupo <i>fluvialis</i>	<i>C. leopoldoi</i> Ortiz, 1950

6.1. Ajustes de Procrustes

O procedimento de ajuste de Procrustes foi realizado com o objetivo de remover os efeitos de posição, escala e orientação das asas dos espécimes analisados, permitindo a comparação exclusivamente da variação da forma entre os indivíduos.

Para o conjunto de dados das espécie *Culicoides*, contendo 216 indivíduos e 13 landmarks em duas dimensões (quadro 2), o alinhamento resultou em valores de Procrustes fit de 0,450 representa a quantidade de variação total da configuração dos landmarks após o processo de superposição, enquanto o valor de Tangente de 0,448 corresponde à variação da forma projetada no espaço tangente.

A proximidade entre esses valores indica que a aproximação realizada no espaço tangente representa adequadamente a variação da forma presente no conjunto analisado, permitindo a aplicação das análises estatísticas subsequentes.

Esses resultados demonstram que, após a remoção das diferenças relacionadas ao tamanho e posicionamento das asas, a variação observada corresponde principalmente à variação morfológica entre os indivíduos analisados, evidenciando diferenças de conformação alar dentro do grupo de *Culicoides*. Dessa forma, o ajuste de Procrustes constitui uma etapa fundamental para avaliar padrões de variação

intraespecífica, possibilitando investigar a existência de diferenciação morfológica entre indivíduos ou populações da espécie.

Quadro 2. Coordenadas da configuração média dos 13 landmarks da asa de *Culicoides maruim* após o ajuste de Procrustes.

Landmarks	eixo 1 (x)	eixo 2 (y)
1	-0,34174810	0,02517677
2	-0,34041358	0,00508896
3	-0,07883849	0,09133667
4	-0,10254339	0,03417822
5	0,09050015	0,18040224
6	0,37669312	0,08019017
7	0,34550304	-0,03037993
8	0,20971801	-0,12390501
9	0,00616955	-0,08197213
10	0,06398094	-0,16688048
11	-0,29053108	-0,03944366
12	-0,31883920	-0,00106559
13	0,38034903	0,02727378

6.2. Análise Variáveis Canônicas

A análise de variáveis canônicas (CVA) evidenciou a variação entre os grupos de espécies de *Culicoides*, ajustada pelo inverso da variação dentro dos grupos, ou seja, comparando as diferenças entre as espécies levando em conta a homogeneidade interna de cada grupo. O primeiro eixo canônico CV1 (Tabela 2) concentrou a maior parte da variação morfológica entre os grupos, com um autovalor de 6,4314, explicando cerca de 60,93% da variação total, sendo o eixo mais relevante para a diferenciação entre as espécies. O segundo eixo CV2 teve um autovalor de 2,0703, sendo responsável por um percentual de 19,61% da variância, elevando o percentual para 80,5%. Ficou demonstrado que os dois primeiros eixos têm uma concentração maior sobre as informações morfológicas observadas. Os demais eixos (CV3 a CV5), menos relevantes, contribuíram para completar o percentual acumulado da variância.

Quadro 3. Variação entre os grupos, escalados pelo inverso da variação dentro dos grupos.

Variáveis Canônicas (CV)	Autovalores	% Variância	% Acumulado
1	6,43141052	60,93	60,934
2	2,07034853	19,61	80,550
3	1,24303013	11,77	92,327
4	0,54594815	5,17	97,499
5	0,26393395	2,50	100,00

A figura 9 mostra a distribuição das seis espécies nas áreas de estudos (Ilha do Cajual e Cujupe) em função da variação morfológica das asas. Cada um dos grupos é representado por pontos coloridos e elipses de confiança, indicando a dispersão sobre os dados verificados.

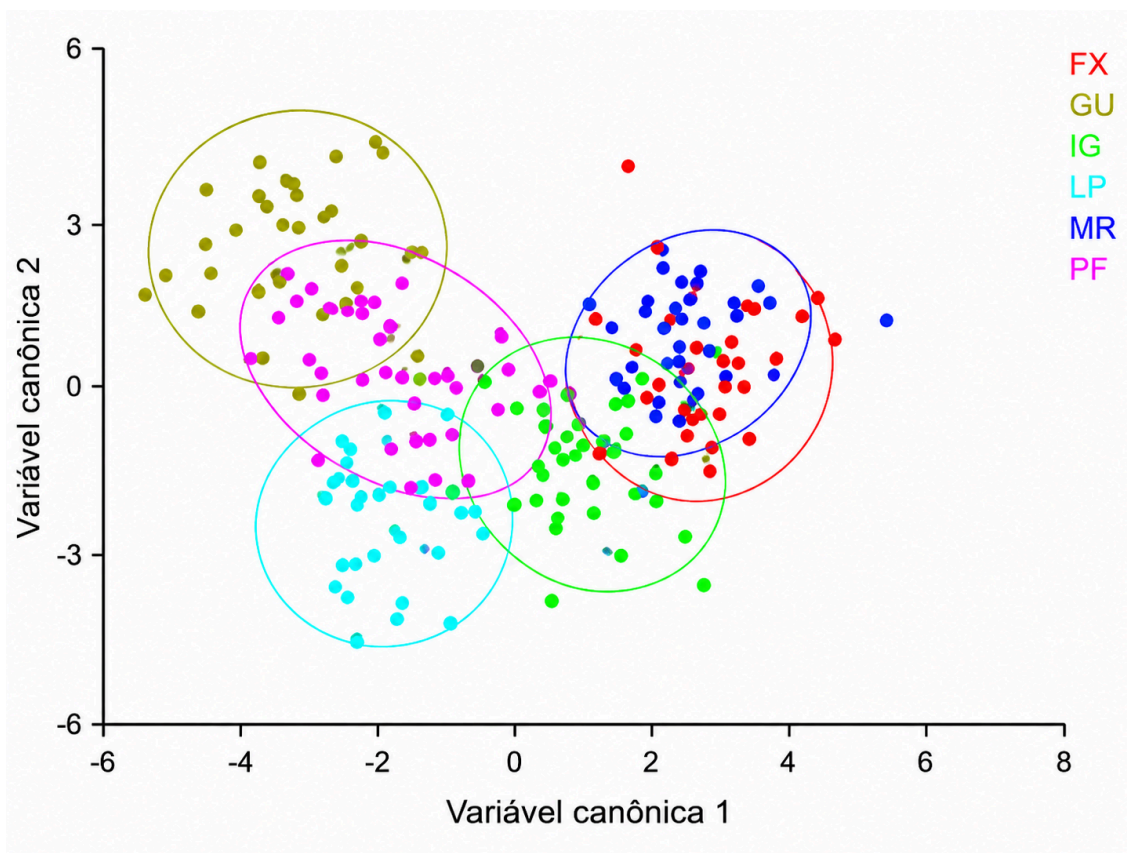


Figura 8. Gráfico de Dispersão de análise canônica das asas de *Culicoides*, separação das espécies pelos eixos canônicos. Cada conjunto de pontos estão representados por cores distintas: *C. foxi* (vermelho), *C. guyanensis* (amarelo-esverdeado), *C. insignis* (verde), *C. leopoldoi* (azul claro), *C. maruim* (azul escuro) e *C. paucienfuscatus* (rosa). **Autora:** Lima, 2026.

O eixo CV1 separou de forma mais evidente os grupos, enquanto o eixo CV2 complementa diferenciações, revelando as variâncias sobre os pontos anatômicos. As elipses demonstram que algumas espécies apresentaram uma sobreposição maior (*C. foxi* e *C. maruim*), enquanto outras se distribuem de maneira mais distinta, apesar ter uma sobreposição mais sutil, o que pode refletir uma proximidade ou diferenciação morfológicas.

6.3. Teste Global e Distâncias Morfológicas

O teste global contra a hipótese nula de ausência de diferenças entre as médias foi altamente significativo. O Goodall's F apresentou um valor de 24,1757 com $p < 0,0001$, e o Pillai's trace foi de 2,6559, também com $p < 0,0001$, confirmando que obtivemos diferenças marcantes entre as espécies analisadas.

As distâncias de Mahalanobis evidenciou variação considerável entre os pares. O menor valor foi observado entre *C. foxi* e *C. maruim* (2,7332), indicando maior proximidade morfológica, enquanto entre *C. guyanensis* e *C. foxi* (6,8478), entre *C. guyanensis* e *C. maruim* (6,4211) apresentaram maiores valores, refletindo assim em uma maior diferenciação (Tabela 3).

Quadro 4. Distância de Mahalanobis entre os grupos de *Culicoides*.

Espécies	<i>C. foxi</i>	<i>C. guyanensis</i>	<i>C. insignis</i>	<i>C. leopoldoi</i>	<i>C. maruim</i>
<i>C. guyanensis</i>	6,8478	—	5,5616	4,6430	6,4211
<i>C. insignis</i>	3,5327	5,5616	—	3,8341	3,2009
<i>C. leopoldoi</i>	6,1017	4,6430	3,8341	—	6,0405
<i>C. maruim</i>	2,7332	6,4211	3,2009	6,0405	—
<i>C. paucienfuscatus</i>	5,4596	4,0086	4,5476	3,6208	5,5245

As distâncias de Procrustes (Tabela 4) reforçaram os padrões com relação às diferenças, mas em escala geométrica menor. O menor valor foi registrado entre *C. foxi* e *C. maruim* (0,0223), também indicou uma maior semelhança, enquanto *C. guyanensis* e *C. maruim* (0,0605) apresentaram a maior distância, indicando uma divergência maior. E as demais comparações variam entre 0,0260 e 0,0553, sendo que a espécie *C. paucienfuscatus* apareceu novamente em uma posição intermediária.

Quadro 5. Distância de Procrustes entre grupos de *Culicoides*.

Espécies	<i>C. foxi</i>	<i>C. guyanensis</i>	<i>C. insignis</i>	<i>C. leopoldoi</i>	<i>C. maruim</i>
----------	----------------	----------------------	--------------------	---------------------	------------------

<i>C. guyanensis</i>	0,0576	—	0,0477	0,0301	0,0605
<i>C. insignis</i>	0,0260	0,0477	—	0,0349	0,0247
<i>C. leopoldoi</i>	0,0500	0,0301	0,0349	—	0,0543
<i>C. maruim</i>	0,0223	0,0605	0,0247	0,0543	—
<i>C. paucienfuscatus</i>	0,0454	0,0275	0,0440	0,0440	0,0553

6.4. Análise de conformação alar entre mesmas espécies de *Culicoides* da Ilha do Cajual e Cujupe

A análise da conformação alar baseada em semilandmarks aplicados às manchas alares características de cada espécie evidenciou diferenças morfológicas entre as espécies da Ilha do Cajual e do Cujupe. Essa abordagem mostrou-se eficiente para detectar diferenças sutis na conformação das manchas pigmentadas das asas, complementando as análises realizadas com landmarks anatômicos tradicionais.

Os resultados evidenciaram diferenças morfológicas estatisticamente significativas apenas para *C. foxi*, *C. leopoldoi* e *C. guyanensis*, enquanto *C. maruim*, *C. paucienfuscatus* e *C. insignis* não apresentaram diferenciação estatisticamente significativa, indicando maior similaridade morfológica entre as populações insular e continental.

Em *Culicoides foxi*, foram utilizados 18 semilandmarks. A Análise de Variáveis Canônicas (CVA) revelou separação entre as populações ao longo do eixo CV1 (Figura 10 A), indicando diferenciação na conformação das manchas alares. O teste de Goodall's F confirmou essa diferença ($F = 2,3985$; $p = 0,0409$), enquanto o Pillai's trace não foi significativo ($0,8911$; $p = 0,7057$).

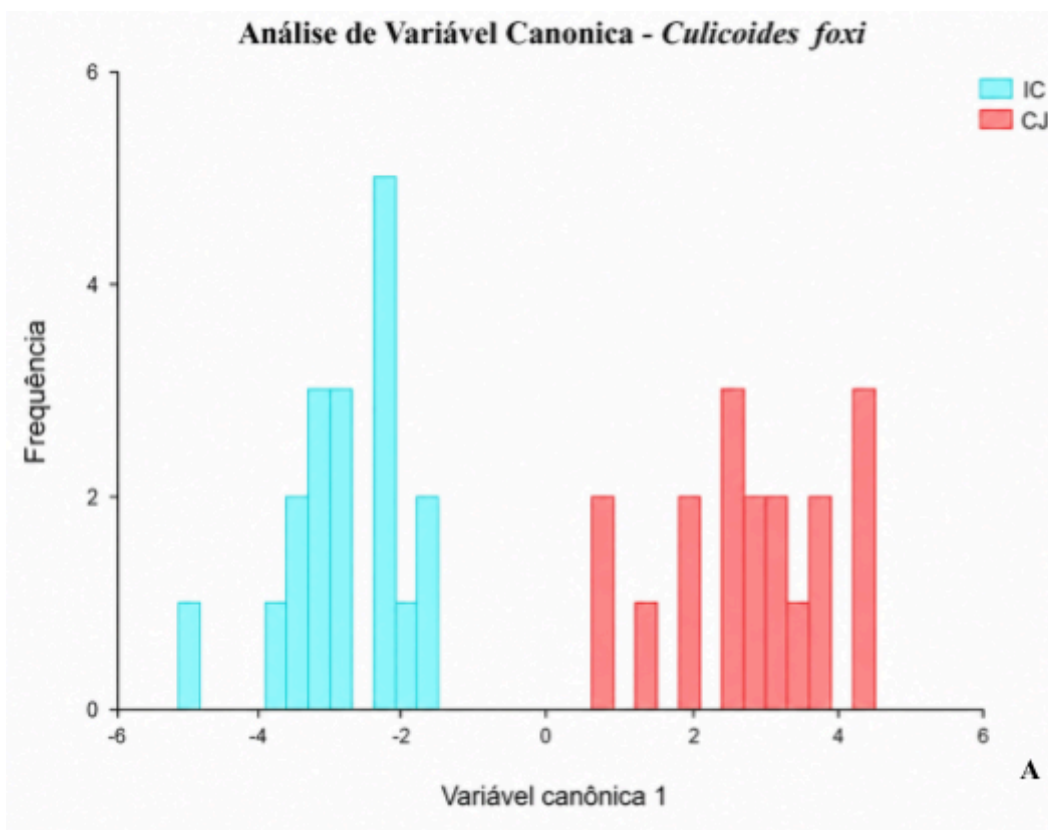


Figura 9. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para *Culicoides foxi*. Os indivíduos da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cajupe (Salmão) formam grupos distintos, evidenciando separação morfológica entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

A distância de Procrustes foi de 0,0954, indicando diferença de forma entre as populações, e a distância de Mahalanobis foi de 5,5596, representando elevada separação multivariada. Na Função Discriminante (DFA), (Figura 11B) todos os indivíduos foram corretamente classificados (18/18 em ambas as localidades); entretanto, a validação cruzada (Figura 11C) reduziu substancialmente a taxa de acerto, com apenas 8 indivíduos do Cajupe e 7 da Ilha do Cajual corretamente reclassificados, indicando baixa capacidade preditiva do modelo.

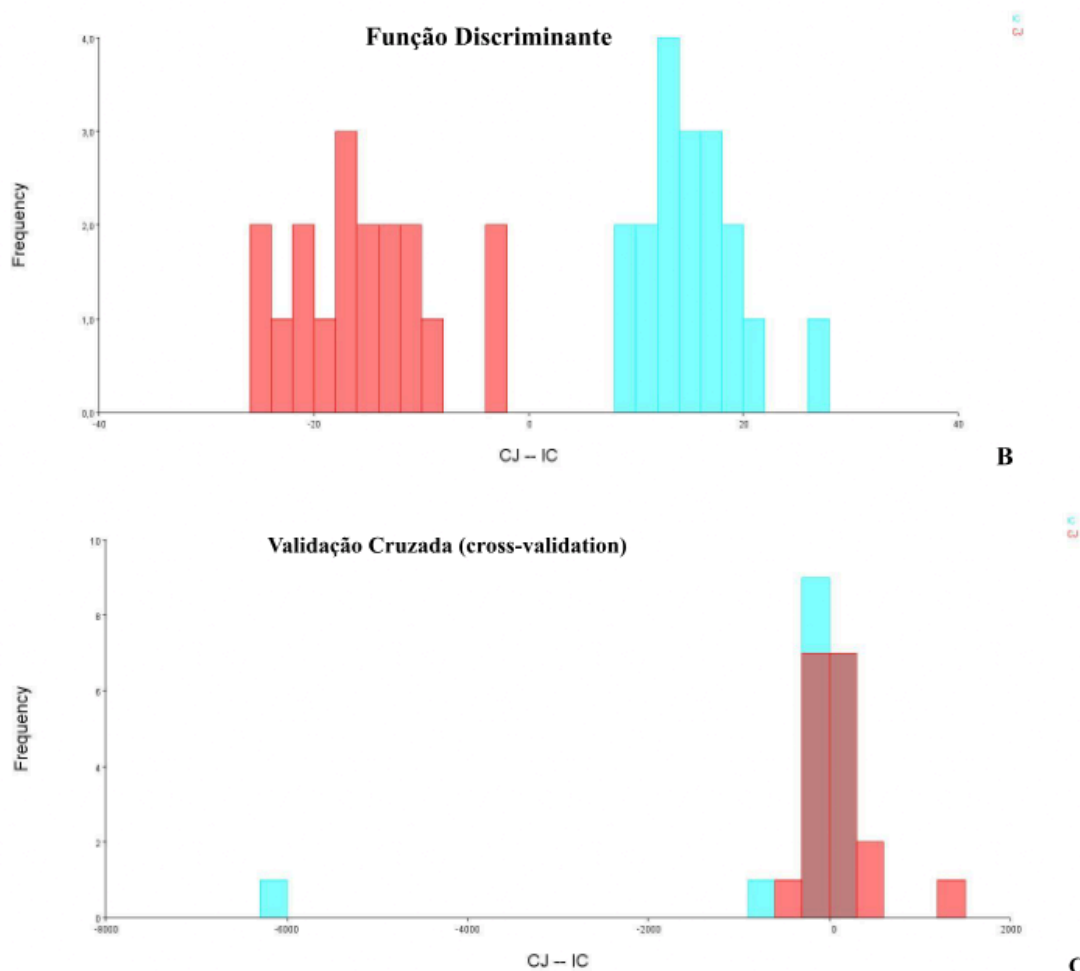


Figura 10. Gráficos da análise discriminante (B) e da validação cruzada (*cross-validation*) (C) para as populações de *Culicoides foxi* da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cajupe (Salmão), utilizando semilandmarks das manchas alares. A função discriminante (B) evidenciou separação clara entre as populações, sem sobreposição entre os grupos. Na validação cruzada (C), observou-se elevada capacidade de classificação dos indivíduos, com pequeno grau de sobreposição, corroborando a diferenciação morfológica entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

Para *C. leopoldoi*, foram utilizados 28 semilandmarks. A Análise de Variáveis Canônicas (CVA) revelou distância de Procrustes de 0,1019 e distância de Mahalanobis de 3,5446. O teste de Goodall apresentou $F = 2,0900$ ($p = 0,0400$), indicando diferença significativa entre as populações de Cajupe e Ilha do Cajual, enquanto o Pillai's trace foi de 1,000 ($p = 0,2640$). A análise canônica (Figura 12 A) evidenciou separação entre as populações ao longo do eixo canônico, apresentando uma sobreposição.

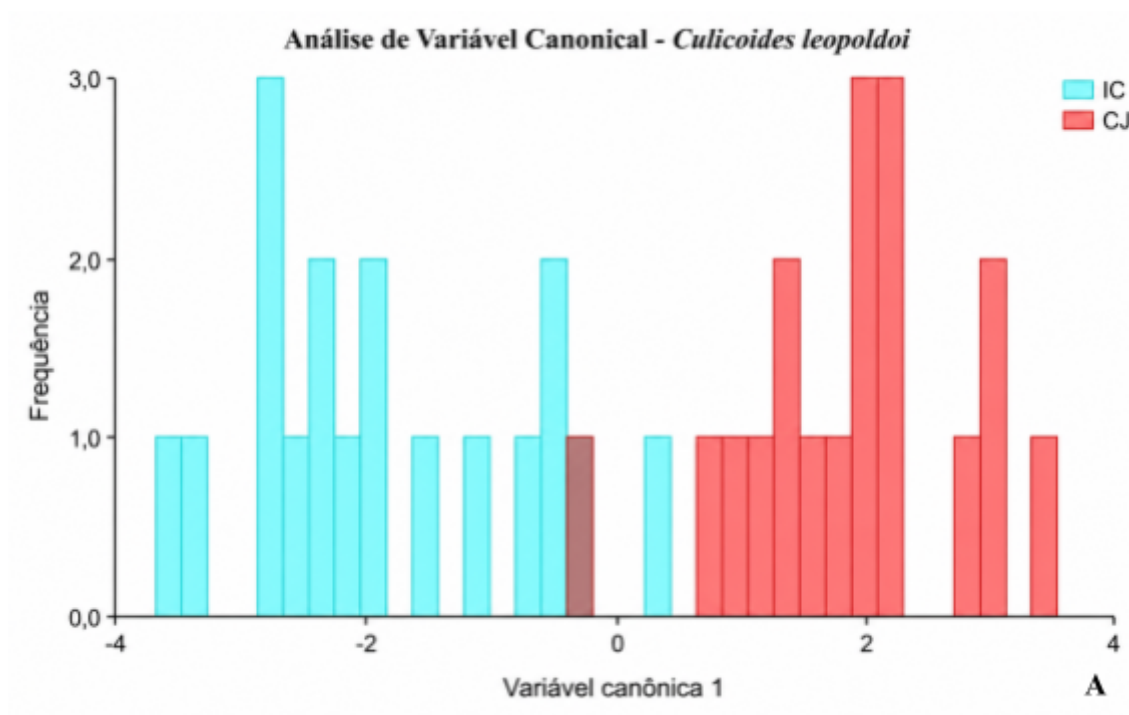


Figura 11. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para *Culicoides leopoldoi*. Os indivíduos da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cajupe (Salmão) formam grupos distintos, evidenciando com discreta sobreposição entre alguns indivíduos, indicando diferenças na conformação das manchas alares entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

Na análise discriminante (Figura 13B), 17 indivíduos de Cajupe e 17 da Ilha do Cajual foram corretamente classificados. Entretanto, na validação cruzada (Figura 13C), apenas 9 indivíduos de cada localidade foram corretamente alocados, indicando redução do poder discriminatório do modelo.

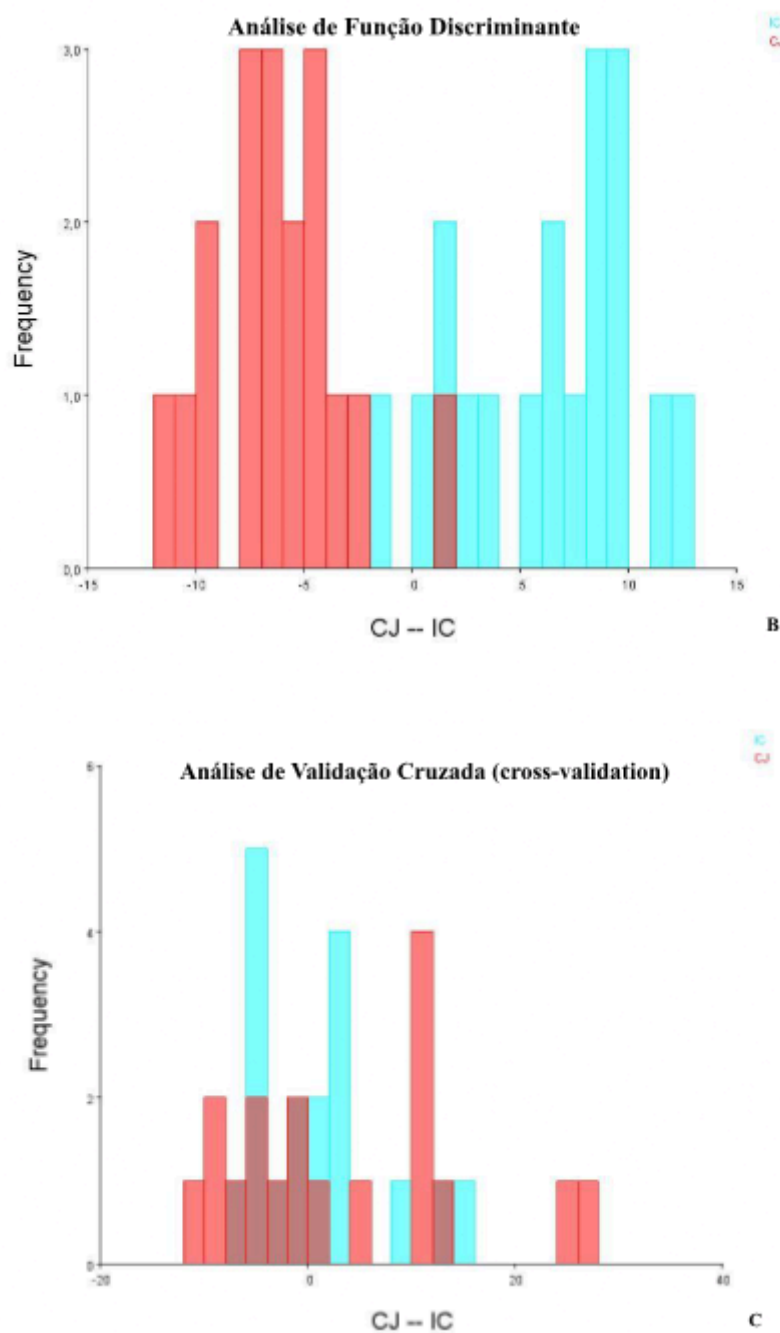


Figura 12. Gráficos das análises de função discriminante (B) e da validação cruzada (cross-validation) (C) para as populações de *Culicoides leopoldoi* da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cujupe (Salmão), com base na análise de semilandmarks das manchas alares. **Autora:** Lima, 2026.

Para *C. guyanensis*, foram empregados 34 semilandmarks (Figura 14). Os resultados mostraram distância de Procrustes de 0,1647 e distância de Mahalanobis de 2,6653. O teste de Goodall apresentou $F = 3,3580$ ($p = 0,0193$), evidenciando diferença significativa entre as localidades, enquanto o Pillai's trace foi de 1,000 ($p = 0,6175$). A análise canônica (Figura 14A) demonstrou uma separação evidente entre os indivíduos de Cuijupe e da Ilha do Cajual ao longo do eixo CV1.

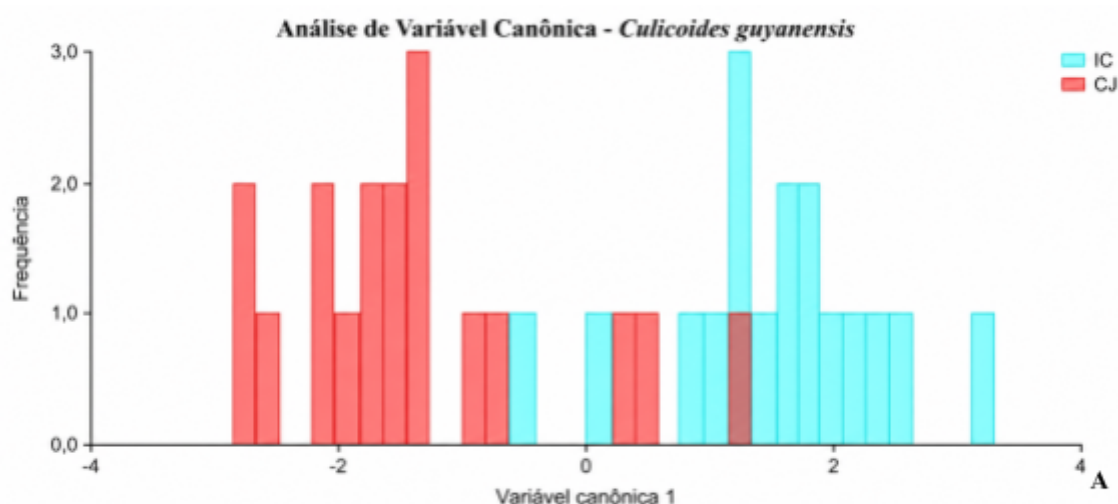


Figura 13. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para *Culicoides guyanensis*. Os indivíduos da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cuijupe (Salmão) apresentam separação parcial, indicando diferenciação morfológica entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

A análise discriminante (Figura 15B) classificou corretamente 15 dos 18 indivíduos provenientes do Cuijupe e 17 dos 18 indivíduos da Ilha do Cajual, demonstrando um elevado desempenho do modelo na classificação dos espécimes utilizados na análise original. Entretanto, na validação cruzada (Figura 15C), considerada uma abordagem mais rigorosa por avaliar a capacidade preditiva do modelo sobre dados independentes, os acertos foram reduzidos para 10 indivíduos de Cuijupe e 9 da Ilha do Cajual.

Esses resultados indicam uma capacidade moderada de discriminação entre as populações, sugerindo que, embora existam diferenças na conformação das manchas alares entre as localidades, parte da variação morfológica é compartilhada entre os

grupos, resultando em sobreposição parcial e limitando a classificação dos indivíduos. Dessa forma, observa-se uma diferenciação populacional detectável, porém não suficientemente acentuada para promover uma separação completa entre as populações analisadas.

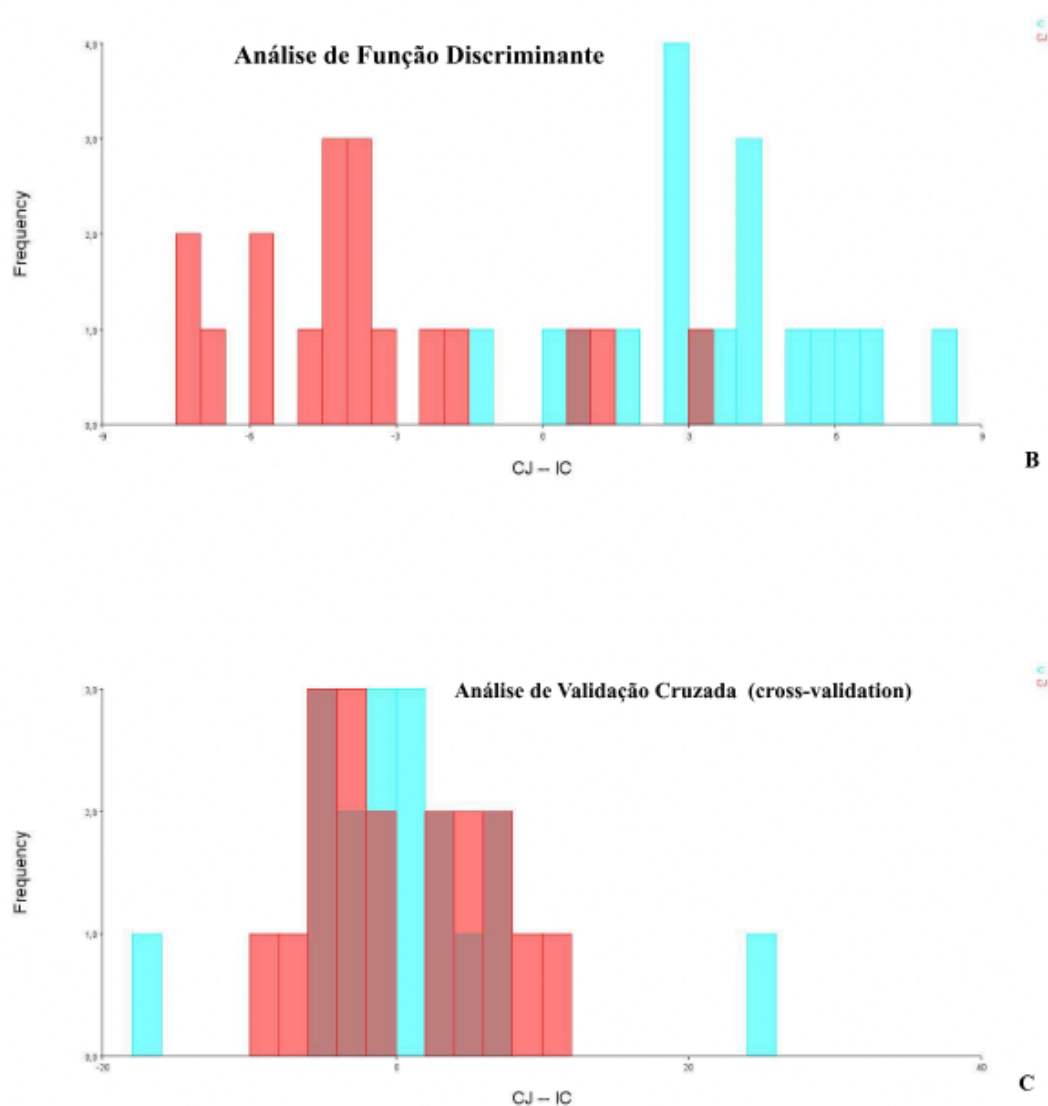


Figura 14. Gráficos resultantes das análises multivariadas aplicadas às asas de *Culicoides guyanensis* das localidades Ilha do Cajual (Verde-claro) e Cuipe (salmão). Histogramas da Análise de Variável Canônica (A), Função Discriminante (B) e Validação Cruzada (C) para a população de *Culicoides guyanensis* da Ilha do Cajual (IC) e Cuipe (CJ), ilustrando o grau de sobreposição morfológica alar dentro da mesma espécie pelas localidades. **Autora:** Lima, 2026.

Por outro lado, as espécies *C. maruim*, *C. paucienfuscatus* e *C. insignis* não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as populações de Cajupe e Ilha do Cajual.

Em *C. maruim*, foram analisados 28 semilandmarks. A distância de Procrustes foi de 0,0927 e a distância de Mahalanobis de 2,4964. O teste de Goodall apresentou $F = 2,0541$ ($p = 0,1019$) e o Pillai's trace foi de 1,0000 ($p = 0,2233$), indicando ausência de diferenças significativas entre as localidades. A análise canônica (Figura 16A) evidenciou ampla sobreposição entre os grupos.

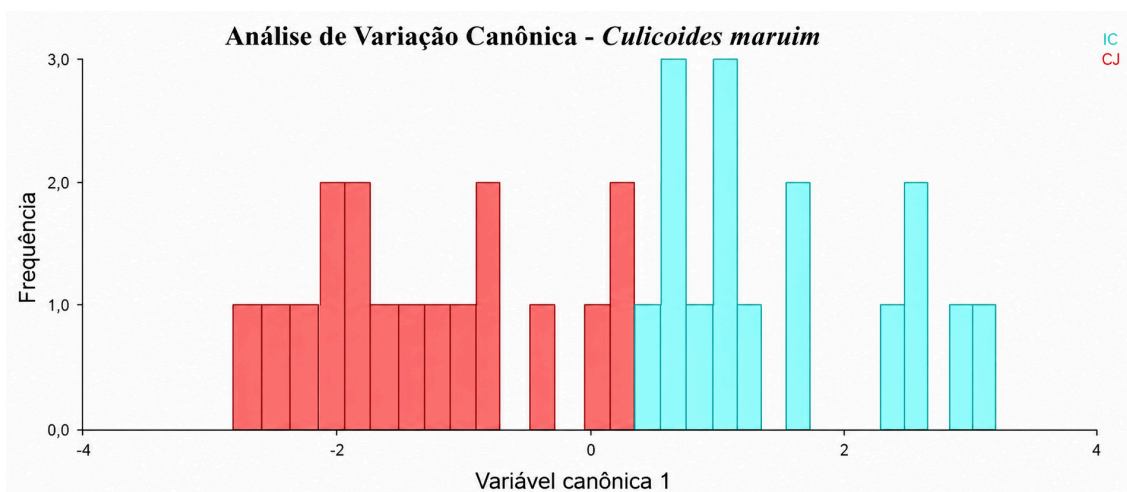


Figura 15. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para *Culicoides maruim*. Os indivíduos da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cajupe (Salmão) formam grupos distintos, indicando ausência de diferenciação morfológica significativa entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

Na análise discriminante (Figura 17B), foram classificados 15 indivíduos de Cajupe e 17 da Ilha do Cajual. Entretanto, na validação cruzada (Figura 17C), apenas 8 indivíduos de Cajupe e 8 da Ilha do Cajual foram corretamente classificados, evidenciando baixa capacidade de discriminação entre as populações.

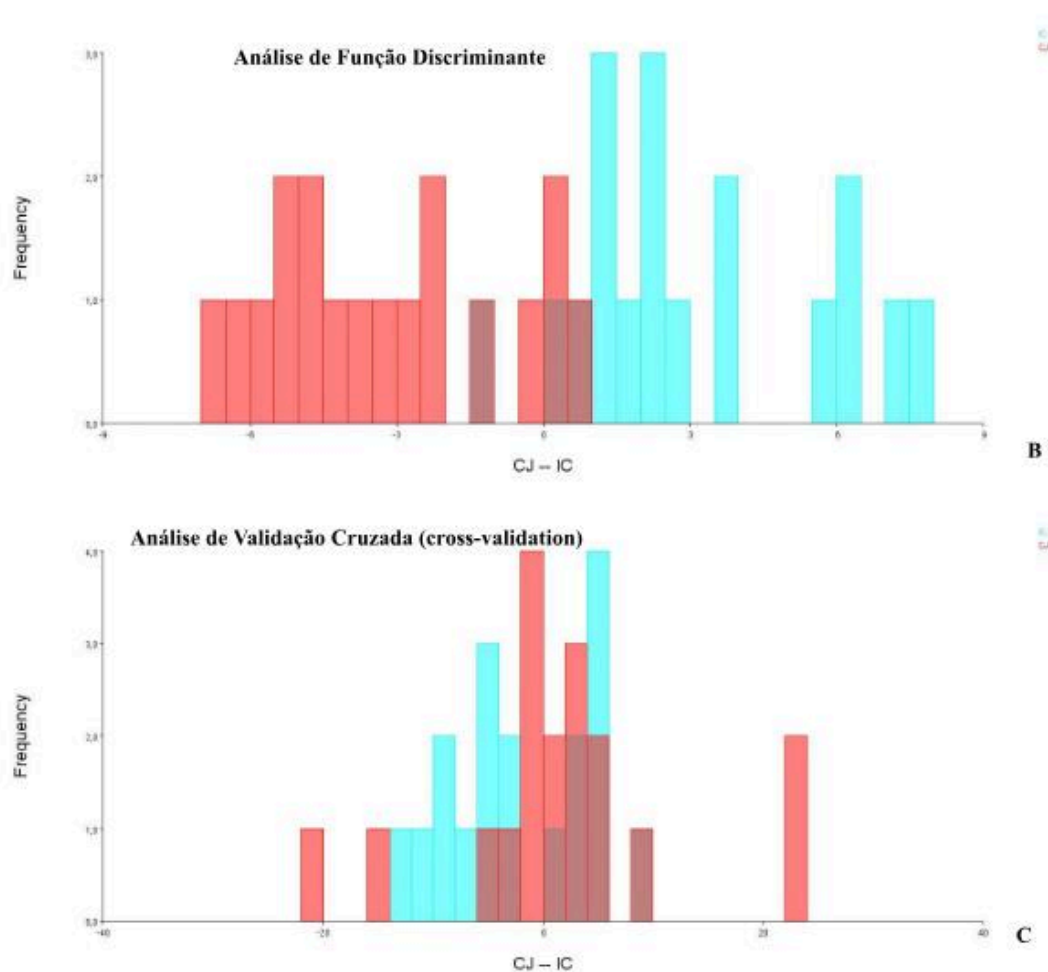


Figura 16. Histogramas da Análise de Variável Canônica (A), Função Discriminante (B) e Validação Cruzada (C) para *Culicoides maruim* das localidades Ilha do Cajual (verde-claro) e Cuipe (Salmão), evidenciando elevada sobreposição morfológica das manchas alares entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

Para *C. paucienfuscatus*, foram utilizados 32 semilandmarks. A distância de Procrustes foi de 0,0384 e a distância de Mahalanobis de 3,3416. O teste de Goodall apresentou $F = 0,4846$ ($p = 0,8248$) e o Pillai's trace foi de 1,0000 ($p = 0,2325$), demonstrando ausência de diferenças significativas entre as localidades. A análise

canônica (Figura 18 A) mostrou elevada sobreposição entre os indivíduos de Cajupe e da Ilha do Cajual.

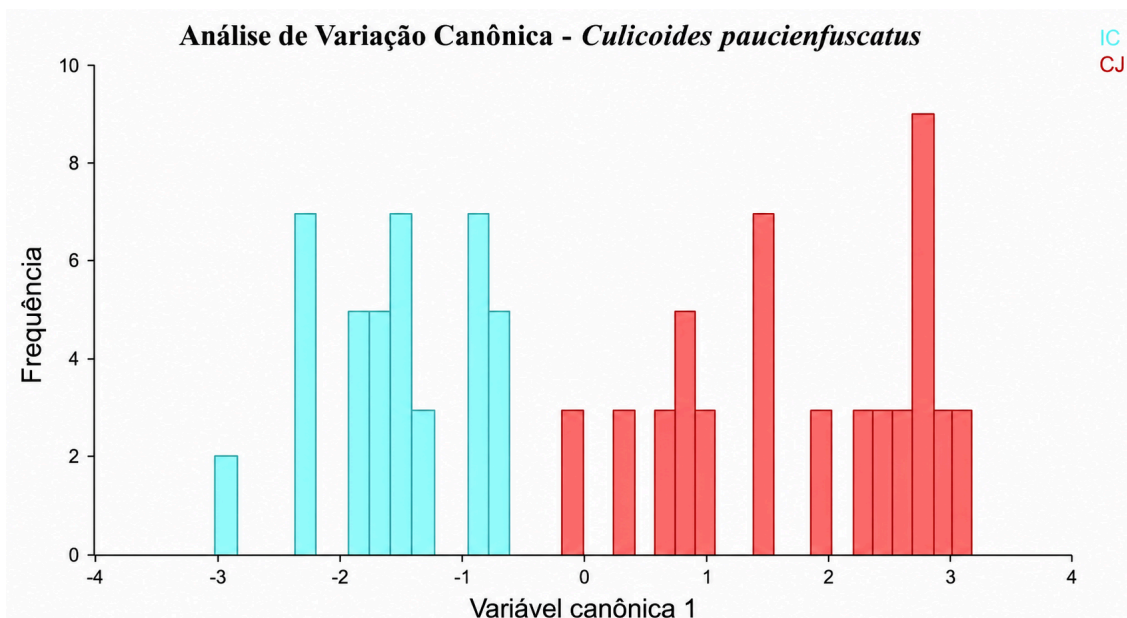


Figura 17. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para *Culicoides paucienfuscatus*. Os indivíduos da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cajupe (Salmão) apresentam ampla sobreposição, indicando ausência de diferenciação morfológica significativa entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

Na análise discriminante (Figura 19 B), 17 indivíduos de cada localidade foram corretamente classificados. Contudo, na validação cruzada (Figura 19C), apenas 6 indivíduos de Cajupe e 9 da Ilha do Cajual foram corretamente alocados, reforçando a baixa capacidade de diferenciação entre as populações.

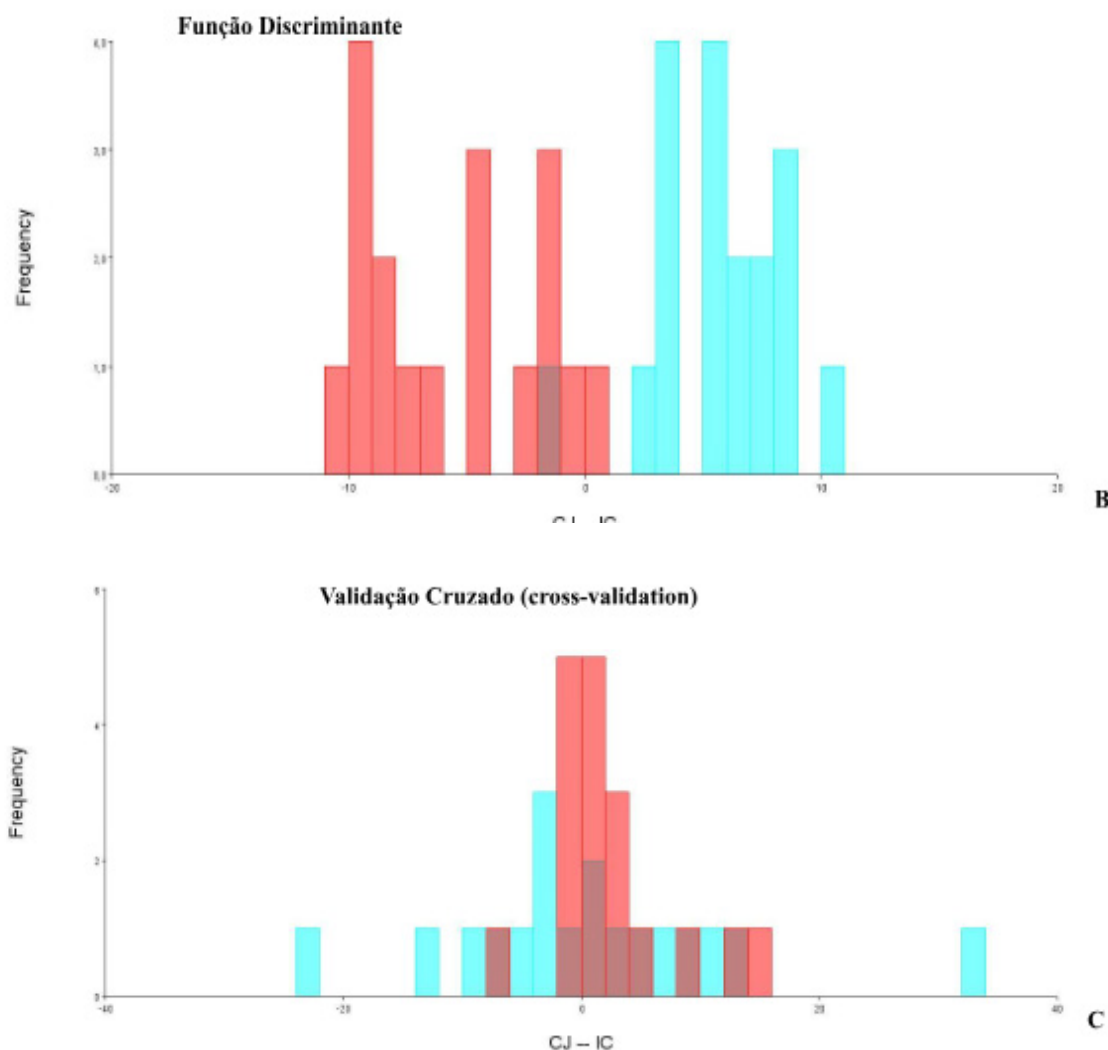


Figura 18. Histogramas da Análise de Variável Canônica (A), Função Discriminante (B) e Validação Cruzada (C) para *Culicoides paucienfuscatus* das localidades Ilha do Cajual (Verde-claro) e Cujupe (Salmão), evidenciando elevada sobreposição morfológica das manchas alares entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

Para *C. insignis*, foram empregados 21 semilandmarks (Figura 20). Os resultados indicaram distância de Procrustes de 0,1022 e distância de Mahalanobis de 3,9494. O teste de Goodall apresentou $F = 1,7887$ ($p = 0,1099$) e o Pillai's trace foi de 1,0000 ($p = 0,9768$), não evidenciando diferenças significativas entre as localidades. A análise canônica (Figura 20A) revelou ampla sobreposição entre os indivíduos de Cujupe e da Ilha do Cajual.

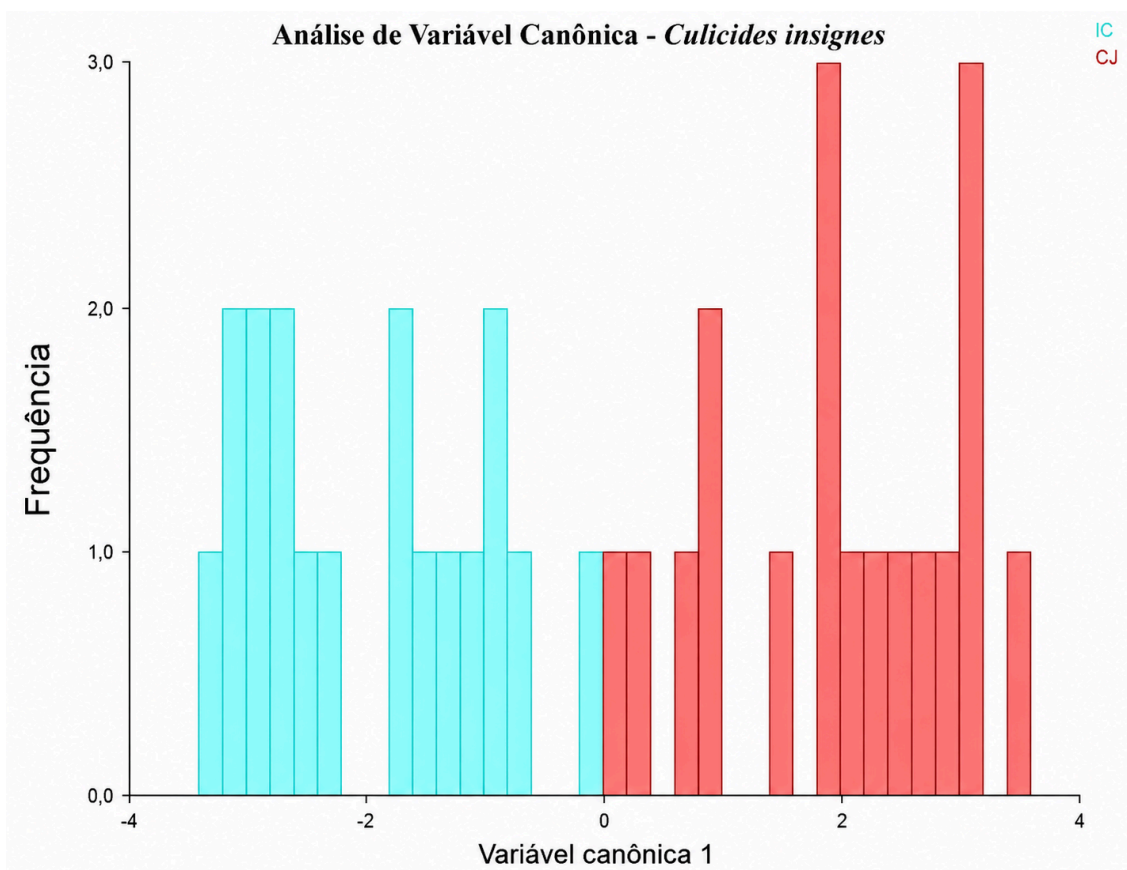


Figura 19. Distribuição dos escores da Variável Canônica 1 (CV1) da análise de variáveis canônicas (CVA) para *Culicoides insignis*. Os indivíduos da Ilha do Cajual (Verde-claro) e de Cajupe (Salmão) apresentam ampla sobreposição, indicando ausência de diferenciação morfológica significativa entre as populações. **Autora:** Lima, 2026.

Na análise discriminante (Figura 21B), todos os indivíduos (18 de Cajupe e 18 da Ilha do Cajual) foram corretamente classificados. Entretanto, na validação cruzada (Figura 21C), os acertos reduziram para 11 indivíduos de Cajupe e 9 da Ilha do Cajual, indicando que o elevado percentual de classificação inicial não se manteve quando o modelo foi testado quanto à sua capacidade preditiva.

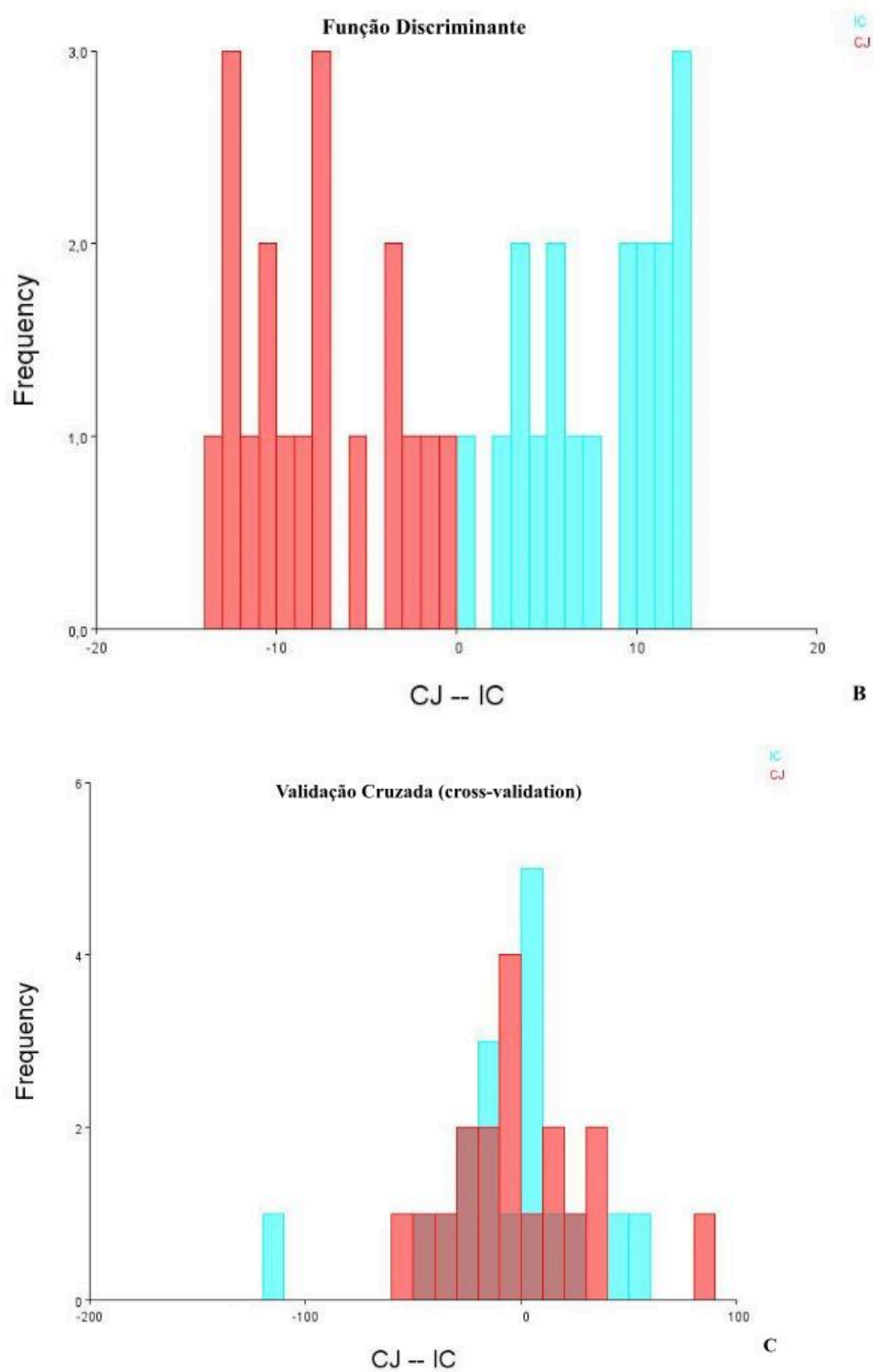


Figura 20. Histogramas da Análise de Variável Canônica (A), Função Discriminante (B) e Validação Cruzada (C) para *Culicoides insignis* das localidades Ilha do Cajual (verde-claro) e Cuijue (Salmão), evidenciando elevada sobreposição morfológica das manchas alares entre as populações. **Autor:** Lima, 2026.

7. DISCUSSÃO

A morfometria geométrica tem se mostrado uma ferramenta eficiente para detectar variações morfológicas em populações de insetos, permitindo identificar padrões de diferenciação que muitas vezes não é possível ser observadas no momento da identificação morfológica tradicional. Estudos realizados com espécies de *Culicoides* demonstraram que a conformação alar possui importante valor taxonômico e populacional, refletindo tanto aspectos evolutivos quanto respostas às condições ambientais locais (Muñoz-Muñoz *et al.*, 2011).

No presente estudo, os 13 marcos anatômicos permitiram capturar as variações morfológicas das asas das seis espécies mais abundantes num inquérito entomológico sistematizado realizado na Ilha do Cajual e no Cujupe (Pimenta *et al.*, 2025). O ajuste de Procrustes resultou em valores consistentes, pois indicou que as variações que foram observadas tiveram através das coordenadas livres da escala e posição, e não se deve apenas a diferença de tamanho e orientação, mas refletiu em padrões reais dos caracteres alares. Esse procedimento é semelhante ao adotado por Souza *et al.* (2020) utilizando análises com *Culicoides*, onde o alinhamento geométrico garantiu comparações mais robustas entre populações de mosquitos vetores, mesmo em espécies crípticas.

Outro ponto relevante foi quanto a escolha dos landmarks em junções de veias e regiões de bifurcação, pois garantiu maior estabilidade na análise. Essas estruturas são menos suscetíveis a deformações durante o preparo das lâminas, constituindo uma vantagem para esse tipo de estudo (Wang *et al.*, 2025). que reforça a pertinência dessa escolha é que a formação das junções venosas e das regiões de bifurcação não ocorre de maneira aleatória, mas resulta de um programa genético altamente regulado. Fatores de sinalização como VEGF e Notch desempenham papel central na definição da arquitetura vascular, garantindo que essas estruturas sejam conservadas entre indivíduos e espécies. Essa determinação genética confere maior consistência morfológica, tornando as junções pontos de referência confiáveis para análises histológicas e morfométricas, além de explicar sua relativa estabilidade mesmo após o preparo das lâminas (Singh; Tubbs, 2018).

A análise de variáveis canônicas demonstrou que os dois primeiros eixos explicaram mais de 80% da variância total, separando as espécies estudadas. Esse

padrão recorrente em estudo de morfometria geométrica, como o de Fonseca *et al.* (2018), que investigou asa de *Anopheles*, nos seus resultados os autores observaram que os dois primeiros eixos concentraram a maior parte da informação morfológica, permitindo diferenciar as espécies, revelando, inclusive, dimorfismo sexual. No caso dos *Culicoides*, a separação mais evidente ocorreu para *C. guyanensis*, que mostrou maior distância das demais espécies, enquanto *C. foxi* e *C. maruim* apresentaram maior proximidade morfológica.

A proximidade entre os grupos de *C. foxi* e *C. maruim* sugere uma maior similaridade morfológica, confirmando os resultados com os valores reduzidos relacionados às distâncias de Mahalanobis e das Procrustes observados entre elas. A sobreposição parcial observada entre esses dois táxons, pode ser reflexo de uma proximidade evolutiva dentro do subgênero *Hoffmania* Fox (Fonseca, 2018). A sobreposição parcial entre os táxons pode ser entendida como reflexo direto da influência filogenética, já que linhagens próximas tendem a conservar padrões morfológicos herdados. Essa conservação da forma é resultado da herança evolutiva, o que explica a estabilidade de certos caracteres mesmo diante de pressões ambientais distintas (Fonseca, 2018). Nesse sentido, a morfometria geométrica se mostra uma ferramenta poderosa para revelar tanto a proximidade evolutiva quanto os pontos de divergência sutis entre espécies aparentadas. Contudo, essa mesma conservação pode limitar a capacidade de distinguir táxons muito próximos, exigindo que os resultados sejam interpretados em conjunto com dados moleculares e ecológicos. Assim, a morfometria geométrica não apenas contribui para a delimitação taxonômica, mas também para a compreensão das relações evolutivas, funcionando como uma abordagem integrativa entre morfologia e filogenia (Rohlf; Marcus, 1993; Adams *et al.*, 2004).

A posição que isola o *C. guyanensis* reflete em adaptações ecológicas distintas e ligada às pressões ecológicas específicas. Às vezes é difícil separar espécies de *Culicoides* apenas por caracteres morfológicos tradicionais, reforçando a importância da morfometria geométrica como ferramenta para delimitação taxonômica e a investigação de padrões populacionais (Felippe-Bauer *et al.*, 2008; Banerjee *et al.*, 2025).

Quando a análise com semilandmarkes comparou as espécies entre as diferentes localidades, obteve-se que *C. foxi*, *C. guyanensis* e *C. leopoldoi* expressaram uma diferença significativa entre a Ilha do Cajual e o Cujupe. As análises canônicas

evidenciaram uma tendência de segregação entre esses grupos, sugestivo de que as configurações de manchas alares características deles podem estar respondendo às pressões ambientais distintas presentes nos ambientes insular e continental. Segundo Hadj-Henni *et al.* (2023), que verificaram diferenciação morfológica em populações geograficamente separadas de *Culicoides circumscriptus*, a morfologia alar pode refletir adaptações locais e processos de plasticidade fenotípica.

No entanto, é importante destacar que os valores de Pillai's trace e da Análise Discriminante não foram significativos para nenhuma das espécies analisadas. Por isso, apenas o teste de Goodall's F foi capaz de detectar diferenças entre as populações de *C. foxi*, *C. leopoldoi* e *C. guyanensis*, sugerindo uma diferenciação na forma alar relativamente sutil.

Um trabalho que investigou a morfometria geométrica alar de espécies de *Culicoides* de importância veterinária em Madagascar, verificou sobreposição morfológica entre grupos próximos e diferentes níveis de sucesso na classificação dos indivíduos, demonstrando que a capacidade de discriminação pode variar conforme o método estatístico utilizado (Hadj-Henni *et al.*, 2023). Essa informação sugere que mesmo que existam evidências de variação morfológica entre as localidades, as diferenças discretas podem não ser suficientes para expressar e detectar as abordagens que foram empregadas.

Já as espécies *C. maruim*, *C. paucienfuscatus* e *C. insignis* não apresentaram em nenhuma das análises uma diferença significativa entre as populações das áreas. A sobreposição visualizada nas análises canônicas sugere uma ocorrência de condições ambientais semelhantes atuando sobre ambas as localidades. Devido à proximidade espacial entre as duas áreas e o pequeno porte dos maruins, pode acontecer a dispersão passiva pelo vento, favorecendo uma conectividade populacional e reduzindo os efeitos do isolamento geográfico.

Apesar das análises discriminantes terem apresentado elevadas taxas de classificação erradas em algumas dessas espécies, a validação cruzada mostrou uma redução considerável nos acertos. Isso significa que parte dessa discriminação pode estar associada à variabilidade intraespecífica. A validação cruzada é considerada uma das ferramentas mais robustas para avaliar a real capacidade de distinção entre grupos, reduzindo o efeito do sobre ajustes estatísticos e fornecendo estimativas mais realistas da diferenciação populacional (Klingenberg, 2011; Zelditch *et al.*, 2012).

Portanto, os aspectos que devem ser considerados são os fatores como temperatura umidade, a disponibilidade de recursos durante o desenvolvimento larval e a características do hábitat que podem produzir modificações na morfologia.

Com o uso de landmarks a padronização geral por grupos resultou bem-sucedida, com espécies mais próximas e outras mais distantes. Contudo, a utilização apenas de semilandmarks dentro das espécies para caracterizar as manchas alares não se mostrou tão adequada para detectar as variações sutis na conformação dessas estruturas. Uma explicação é que as marcações desses pontos também podem introduzir certo grau de subjetividade, mesmo sendo realizado de forma padronizada em todos os indivíduos. Dessa forma, essa limitação metodológica pode ter reduzido a sensibilidade das análises na detecção das diferenças alares discretas entre algumas das populações estudadas.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De modo geral, os resultados obtidos demonstram que a morfometria geométrica constitui uma abordagem eficiente para a avaliação de variabilidade morfológica em espécies de *Culicoides*, possibilitando a identificação de padrões de diferenciação que nem sempre são perceptíveis por meio da taxonomia morfológica convencional. A primeira análise, baseada em 13 landmarks anatômicos distribuídos principalmente nas veias alares, permitiu discriminar pelo menos três espécies estudadas e evidenciar diferenças na conformação das asas, destacando o distanciamento morfológico de *C. guyanensis* em relação às demais espécies e a maior proximidade entre *C. foxi* e *C. maruim*. Esses resultados reforçam a aplicabilidade da morfometria geométrica na delimitação taxonômica e na caracterização da diversidade morfológica de ceratopogonídeos.

A segunda análise, baseada em semilandmarks aplicadas às manchas alares que dá característica para cada uma das espécies, revelou que três espécies (*C. foxi*, *C. guyanensis* e *C. leopoldoi*) apresentaram indícios de divergência entre as populações da Ilha do Cajual e Cujupe, enquanto as outras três (*C. maruim*, *C. paucienfuscatus* e *C. insignis*) exibiram uma maior uniformidade morfológica entre as localidades investigadas. Isso se deve, provavelmente, às questões relacionadas à influência dos fatores ambientais e ecológicos sobre a morfologia que pode manifestar-se de maneiras

distintas entre as espécies, refletindo em níveis de plasticidade fenotípica, adaptação ao local e conectividade populacional.

Além disso, a redução das taxas de classificação corretas observadas na validação cruzada indica que parte da variação registrada pode estar associada à elevada variabilidade intraespecífica, ressaltando cautela na interpretação dos padrões verificados. Embora tenha-se feito o uso de semilandmarks, possibilitando explorar características específicas da configuração das manchas nas asas, pode ocorrer erros de marcações desses pontos. Além disso, a influência das condições ambientais durante o processo de desenvolvimento desses insetos pode ter contribuído para essa diversificação.

Em suma, esta pesquisa amplia o conhecimento sobre a diversificação nas estruturas morfológicas de *Culicoides* em ambientes costeiros e insulares do Maranhão, fornecendo informações inéditas acerca das relações morfológicas entre as espécies e das variações entre as populações de uma mesma espécie. Este estudo fornece subsídios para futuros trabalhos que associam dados morfológicos, moleculares e ambientais, contribuindo para a ampliação dos conhecimentos sobre os fatores que influenciam a distribuição, a diversidade e a variação populacional no Maranhão.

9. REFERÊNCIAS

ADAMS, D. C.; COLLYER, M. L.; KALIONTZOPOULOU, A. Geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. **Methods in Ecology and Evolution**, London, v. 8, n. 11, p. 1133-1140, 2017.

ALVES, D. C. V.; SILVA, J. D. S.; ALMEIDA, N. M. D.; DIAS, R.; SILVA, S. O. F.; ALENCAR, J. (2025). Aspectos da alimentação sanguínea de mosquitos (Diptera: Culicidae) durante o período crepuscular em remanescentes da Mata Atlântica do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Front. Ecol. Evol.** 14:1721533. doi: 10.3389/fevo.2025.172153.

BANDEIRA, M. A. C., PENHA, A. D., MORAES, J. L., BRITO, G. A., REBÊLO, J. M. M. Infestation of Brazilian Peridomiliary Areas by *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Humid and Semihumid Climates. **J Med Entomol.** pii: tjw059, 2016.

BANDEIRA, M. C. A.; BRITO, G. A.; PENHA, A. D.; SANTOS, C. L. C.; REBÊLO, J. M. M. The influence of environmental management and animal shelters in vector control of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) in northeastern Brazil. **Jour. Of Vector Ecol.** v. 42, n. 1, 2017.

BANDEIRA, M. C. A.; CERQUEIRA, A. B.; MORAES, J. L. P.; BRASIL, R. P.; REBÊLO, J. M. M. Diversidade de *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) em assentamentos rurais e florestas decíduas sazonais degradadas. **Revista de Entomologia Médica**, Volume 59, Edição 1, páginas 240-247, 2022.

BANDEIRA, M. C. A.; RODRIGUES, B. L.; SOARES, G. H. C.; FERREIRA, A. L.; COSTA, L. F. C.; BRASIL, R. P.; REBÊLO, J. M. M. DNA Barcoding *Culicoides* Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae) in Northeast Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Volume 60, Issue 3, May 2023, Pages 608–614, 2023. Disponível em: <https://academic.oup.com/jme/article-abstract/60/3/608/7067470>. Acesso em: 08 Fev. 2026.

BARNERJEE, N.; MAZUMDAR, S. M.; PALL, A.; CHATTERJEE, D.; MZUMDAR, A. A novel Bayesian approach based on wing geometric morphometry to discriminate *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae), *Journal of Medical Entomology*, Volume 62, Issue 5, Pages 1124–1138, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjaf082>. Acesso em: 21 Jun. 2026.

BLANTON, F. S.; WIRTH, W. W. **The Sand Flies (*Culicoides*) of Florida (Diptera: Ceratopogonidae)**. Gainesville: Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Arthropods of Florida and Neighboring Land Areas, n. 10, 1979.

BORKENT, A. The pupae of the biting midges of the world (Diptera: Ceratopogonidae), with a generic key and analysis of the phylogenetic relationships between genera. **Zootaxa**, 2014. doi: 10.11646/zootaxa.3879.1.1.

BORKENT, A. World species of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). **Last update May, v.16, 2016a**. Disponível em: <https://www.inhs.illinois.edu/files/4514/6410/0252/CeratopogonidaeCatalog.pdf>. Acesso em: 18 jan 2026.

BORKENT, A.; DOMINIAK, P.; DÍAZ, F. An Updat and Errata for the Catalog of the World (Diptera: Ceratopogonidae). **Zootaxa**, 2022. Disponível em: <https://nva.sikt.no/registration/0198cc5f89ea-0b047690-1049-48b2-bf98-65704cf241c0>. Acesso em: 12 jan 2026.

BORKENT, A.; DOMINIAK, P. Catálogo dos mosquitos picadores do mundo (Diptera: Ceratopogonidae). **Zootaxa**, Vol. 4787, N° 1, 2020. Disponível em: <https://www.mapress.com/zt/article/view/zootaxa.4787.1.1>. Acesso em: 27 Jan 2026.

BORKENT, A.; DOMINIAK, P. World species of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). **Zootaxa**, 2016.

BOOKSTEIN, F. L. Morphometric tools for landmark data: geometry and biology. Cambridge: **Cambridge University Press**, 1991. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/books/morphometric-tools-for-landmark-data/A18AD895945610BAD6396E76CEB512CD>. Acesso em: 20 Jan 2026.

BORKENT, A.; SPINELLI, G. R. Neotropical Ceratopogonidae (Diptera: Insecta) In J Adis, JR Arias, G Rueda-Delgado, KM Wnatzén, **Aquatic biodiversity in Latin America** (ABLA), Vol. 4, Pensoft, Sofia-Moscow, 2007, p. 1-198.

CARDINI, A.; SEETAH, K. **Semilandmarks: a method for quantifying curves and surfaces in geometric morphometrics**. In: SHUKUROV, A.; MURRAY, J. A. (org.). *Morphometrics for Nonmorphometricians*. Cham: Springer, 2017. p. 93–116.

CARVALHO, L. P. **Aspectos morfológicos e taxonômicos de *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

CEPEDA, R. M. S. Avaliação de eficácia de produtos biocidas no processo de autorização para comercialização, e sua aplicação no controlo de Culicoides em surtos de Língua Azul. **Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária**, Lisboa, 2010.

DÍAZ, F.; RONDEROS, M. M. Diversity of Culicoides Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) in Argentina: new records and species. **Zootaxa**, v. 1, 1-72, 2015.

DUJARDIN, J. P. Morphometrics applied to medical entomology. Infection, Genetics and Evolution. **Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, 8(6): 875-890, 2008.

DRYDEN, I. L.; MARDIA, K. V. **Statistical Shape Analysis**. Chichester: John Wiley & Sons, 1998.

DRYDEN, I. L.; MARDIA, K. V. **Statistical Shape Analysis: with Applications in R**. 2. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2016.

FARIAS, E. S.; SILVA, F. S.; ALMEIDA, J. R. Aspectos Ecológicos de Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) em ambientes rurais e urbanos do Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 59(2), 123-130, 2015.

FELIPPE-BAUER, M. L.; CÁCERES, A.; SILVA, C. S. D.; VALDERRAMA-BAZAN, W.; GONZALES-PEREZ, A.; COSTA, J. M. New records of Culicoides Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) from Peruvian Amazonian region. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 2, p. 33-38, 2008.

FARIAS, E.S.; JÚNIOR, A.M.P.; ALMEIDA, J.F.; PESSOA, F.A.C.; MEDEIROS, J.F. 2015. **Hematophagous biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) from Tefé municipality, Amazonas state, Brazil**. Checklist, 11(4): 1-5.

FERREIRA-KEPPLER, R. L.; RONDEROS, M. M.; DÍAZ, F. Família Ceratopogonidae (Diptera). In: Rafael, J. A. *et al.* (eds.). Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia. Ribeirão Preto: **Holos Editora**, p. 653-665, 2014.

FERREIRA-KEPPLER; R.L.; RONDEROS, M.M.; DIAZ, F.; SPINELLI, G.R.; TORREIAS,S.R.S. Ordem Diptera. Família Ceratopogonidae. In: Hamada, N.;Nessimian, J.L.,Querino, R.B.. (Eds.). Insetos Aquaticos na Amazônia brasileira: Taxonomia, Biologia e Ecologia. 1ª ed. Manaus: **Editora do INPA**. p. 711-723, 2014.

FERREIRA-KEPPLER, R.; RONDEROS, M. M.; DIAZ, M. F.; SPINELLI, G. R.; TORREIAS, S. R. S. Ordem Diptera: Família Ceratopogonidae. **Editora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia**; 30; 2014; 711-723.

FISHER, R. A. The use of multiple measurements in taxonomic problems. **Annals of Eugenics**, v. 7, n. 2, p. 179 – 188, 1936.

FORATTINI, O. P. **Entomologia Médica**: Culicini, Haemagogini, Sabethini. São Paulo: Faculdade de Higiene e Saúde Pública, USP, 1957.

FORATTINI, O.P., REBELLO, E.X. & PATTOLI, D. Culicoides da região Neotropical (Diptera: Ceratopogonidae). I. Observações sobre a biologia em condições naturais. Arqvs. Fac. Hig. **Saúde Pública**. Univ. S. Paulo, 1958, 12(11):1-52.

FONSECA, F. V. **Morfometria Geométrica e Banco de Dados na Investigação de problemas biológicos em Culicidae**. Tese de Doutorado em Ciências - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

FONSECA, E. O.; SILVA, T. R.; FERREIRA, R. L. Morfometria geométrica aplicada à diferenciação de espécies de Anopheles (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 3, p. 185-193, 2018.

GONZÁLEZ, M. A.; MAGALHÃES, S.; BAVO-BARRIGA, D.; MONTEYS, V. S.; PUENTE, J. M. D. L.; FIGUEROLA, J. A amostragem de Culicoides com métodos não tradicionais proporciona uma composição de espécies incomum e novos registros para o sul da Espanha. **Vetores de Parasitas**, 17 (1):338; 2024.

GUALAPURO, M. Contribución al estudio de la fauna de Culicoides (Díptera: Ceratopogonidae) en la zona norte del Ecuador. Tesis de pregrado de la carrera de Biotecnología - Universidad San Francisco de Quito. Quito, Ecuador. Gurgel-Gonçalves, R., Abad-Franch, F., Ferreira, J.B., Santana, D.B. & Cuba, C.A. 2008. Is Rhodnius prolixus (Triatominae) invading houses in central Brazil? **Acta Tropica**, 2013, 107(2): 90-98.

GUSMÃO, G. M. C.; BRITO, G. A.; MORAES, L. S.; BANDEIRA, M. C. A.; REBÊLO, J. M. Temporal Variation in Species Abundance and Richness of Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) in a Tropical Equatorial Area. **J. Med. Entomol**, v. 20, n. 20 p.1-6, jan, 2019.

GUSMÃO, D. S.; BANDEIRA, M. C. A.; REBÊLO, J. M. M. Fontes de alimentação sanguínea de Culicoides (Díptera: Ceratopogonidae) em áreas rurais do Maranhão. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 455-462, 2015.

GOODALL, C. R. R. Procrustes methods in the statistical analysis of shape. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B*, v. 53, n. 2, p. 285-339, 1991.

GONZÁLEZ, M. A.; FELLIPER-BAUER, M. L.; SPINELLI, G. R. **Manual ilustrado para identificação de Culicoides neotropicais (Diptera: Ceratopogonidae)**. Buenos Aires: Instituto Miguel Lillo, 2024.

HADJ-HENNI, L.; MILLOT, C.; LEHRTER, V.; AUGOT, D. Morfometria das asas de mosquitos picadores (Diptera: Culicoides) de importância veterinária em Madagascar. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 114, p. 105 - 494, 2023.

HARRUP, L. E.; PURSE, B. V.; GOLING, N.; CARPENTER, S. *Larval development and emergence sites of Culicoides biting midges: a review*. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 29, n. 4, p. 331–340, 2013.

HADJ-HENNI, L.; DELECOLLE, J. C.; BALENGHIEN, T. Morphological variation in populations of *Culicoides circumscriptus* (Diptera: Ceratopogonidae) revealed by geometric morphometrics. *Parasites & Vectors*, v. 16, p. 210, 2023.

HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; FRIEDMAN, J. *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction*. 2^o ed. New York: **Springer**, 2009.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Alcântara (MA). **Cidades e Estados**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ma/alcantara.html> Acesso em: 05 jan. 2026.

KAMPEN, H.; WERNER, D. Biting Midges (Diptera: Ceratopogonidae) as Vectors of Viruses. *Microorganisms*, v. 11, n. 11, p. 2076, 2023.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, v. 11, n^o 2, p. 353 – 357, 2011.

LIMA, V. R. D. **O uso da morfometria geométrica alar para análise de simetria bilateral em mosquitos Culex (subgênero: Culex)**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas, **Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2021.

LYRA, M. L.; HATADANI, L. M.; AZEREDO-ESPIN, A. M. L.; KLAXZKO, L. B. Wing morphometry as a tool for correct identification of primary and secondary New World screwworm fly. *Bulletin of Entomological Research*, 100(1): 19-26, 2010.

MANTHEY, LAURA E OUSLEY, STEPHEN D. “Geometric morphometrics”. In Obertová, Zuzana; Stewart, Alistair e Cattaneo, Cristina (eds.). *Statistics and Probability in Forensic Anthropology*. 1.^a ed. London: **Academic Press**, p. 289-298, 2020.

MACARTHUR, R. H.; WILSON, E. O. *The Theory of Island Biogeography*. Princeton: **Princeton University Press**, 1967.

MACLACHLAN, N. J.; MAYO, C. E.; DANIELS, P. W.; SAVINI, G.; ZIENTARA, S.; GIBBS, E. P. J. Bluetongue. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 5, n. 27, p. 1-20, 2019.

MAHALANOBIS, P. C. On the generalized distance in statistics. *Proceedings of the National Institute of Sciences of India*, v. 2, p. 49-55, 1936.

MANTHEY, J. D.; OUSLEY, J. D. Canonical variate analysis in geometric morphometrics: applications and interpretations. *Evolutionary Biology*, v. 47, p. 120-132, 2020.

MAYR, E. *Animal Species and Evolution*. Cambridge: **Harvard University Press**, 1963.

MELLOR, P. S.; BOORMAN, J.; BAYLIS, M. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology*, v. 45, p. 307-340, 2000.

MELLOR, P. S. WITTMANN, E. J. Bluetongue vírus in the Mediterranean Basin 1998-2001. *Veterinary Journal*, v. 164, p. 20-37, 2002.

MITTEROECKER, P.; GUNZ, P. **Advances in geometric morphometrics**. *Evolutionary Biology*, New York, v. 36, n. 2, p. 235–247, 2009. DOI: 10.1007/s11692-009-9055-x.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. Princípios de morfometria geométrica, São Paulo: **Ed. Holos**, p. 189, 1999.

MUÑOZ-MUÑOZ, F.; TALAVERA, S.; PAGÈS, N. Morfometria geométrica da asa no subgênero *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae): das implicações práticas às interpretações evolutivas. *Journal of Medical Entomology*, v. 48, n. 2, p. 129-139, 2011.

OGOLA, E. O.; BASTOS, A. D. S.; SLOTROUWER, I.; GETUGI, C.; OSALLA, J.; OMOGA, D. C. A.; ONDIFU, D. O.; SANG, R.; TORTO, B.; TCHOUASSI, D. P. Viral diversity and blood-feeding patterns of Afrotropical *Culicoides* biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). *Front. Microbiol.* 14:1325473, 2024.

PEREIRA, L. M. A. **Morfometria alar da espécie de *Culicoides guyanensis* (diptera: ceratopogonidae) ocorrentes nos municípios do maranhão, brasil**. Tese de Monografia. São Luís, MA, 2020.

PEREIRA, A. C. Aplicações da morfometria geométrica em estudos de insetos vetores. *Entomologia em Foco*, v. 12, n. 2, p. 45-60, 2020.

PEREIRA, E. D.; CARVALHO, I. S.; SANTOS, M. E. C. M. Aspectos geológicos e paleontológicos da Ilha do Cajual, Maranhão. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, v. 5, n. 2, p. 185-204, 2010.

PEREIRA, P. R. M.; et al. **Principais Unidades de Paisagens da Ilha do Cajual, Alcântara Maranhão.** In: XIV Simpósio Brasileiro de Geografia Física Aplicada, 2011, Dourados. Anais do XIV Simpósio Brasileiro de Geografia Física Aplicada. Dourados, MS: EDUFGD, 2011. V. 1. P. 1-11.

PILLAI, K. C. S. *Some New Test Criteria in Multivariate Analysis*. New York: Wiley, 1995.

PIMENTA, S. S., PIMENTA, A. C. S., PINHEIRO, L. C., CARVALHO, L. DA S. B., BANDEIRA, M. DA C. A., PEREIRA, A. C. N., & REBÊLO, J. M. M. (2025). Composição e ranque de abundância da fauna continental e insular de Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) de Alcântara, Maranhão, Brasil. *Caderno Pedagógico*, 22(7), 16-98, 2025.

PUGEDO, H.; BARATA, R. A.; FRANÇA-SILVA, J. C.; DIAS, E. S. HP: Um modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos insetos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 38, n° 1, p. 70 – 72, jan – fev, 2005.

PURSE, B. V.; MELLOR, P. S.; ROGERS, D. J.; SAMUEL, A. R.; MERTENS, P. P. C.; BAYLIS, M. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology*, v. 3, p. 171-181, 2005.

ROHLF, F. J.; MARCUS, L. F. **A revolution in morphometrics.** *Trends in Ecology & Evolution*, Amsterdam, v. 8, n. 4, p. 129–132, 1993. DOI: 10.1016/0169-5347(93)90024-J.

ROHLF, F. J. Comparative methods for the analysis of shape. In: ZELDITCH, M. L. (Ed.). *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. San Diego: Academic Press, 2001.

ROHLF, F. J. *TPSDig, version 2.0*. Stony Brook: Department of Ecology and Evolution, State University of New York, 2001.

ROHLF, F. J. *TPS Utility Program (TPSUTIL), Version 1.74*. Stony Brook: State University of New York, 2017.

ROHLF, F. J.; SLICE, D. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, v. 39, n. 1, p. 40-59, 1990.

ROHLF, F. J. *TPS series of software*. Stony Brook: Department of Ecology and Evolution, **State University of New York**, 2015.

ROMERO-ALVAREZ, D.; ESCOBAR, L. E. Oropouche fever, an emergent disease from the Americas. *Microbes and Infection*, v. 20, n. 3, p. 135-146, 2018.

SANTARÉM, M. C. A.; FELIPPE-BAUER, M. L. **Brazilian species of Biting Midges: Espécies de maruins do Brasil (Diptera: Ceratopogonidae)**. Coleção de Ceratopogonidae (CCER/ FIOCRUS), Laboratório de Diptera, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil, 2016. Disponível em: https://portal.fiocruz.br/sites/portal.fiocruz.br/files/documentos/2016_brazilian_species_of_biting_midges_final.pdf. Acesso em: 18 Jan. 2026.

SANTARÉM, V. A.; LELIS, R. T.; RUBIO, E. M. Mansonelose humana: revisão sobre epidemiologia e transmissão. *Revista de Patologia Tropical*, v. 39, n. 1, p. 1-12, 2010

SANTARÉM, M. C. A., CONFALONIERI, U.; FELIPPE-BAUER, M. L. Diversidade de *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) na Floresta Nacional de Caxiuanã, Melgaço Pará, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 1 n° 4, p. 29-33, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/288964565_Diversity_of_Culicoides_Diptera_Ceratopogonidae_in_the_National_Forest_of_Caxiuanã_Melgaço_Para_State_Brazil. Acesso em: 29 Jan 2026.

SANTOS, M. C.; PEREIRA, E. D.; CARVALHO, I. S. Caracterização ambiental e vegetacional da Ilha do Cajual, Maranhão. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, v. 25, p. 45-57, 2012.

SILVA, F. S.; BRITO, J. M.; NETO, B. M. C.; LOBO, S. E. P. D. Evaluation of light-emitting diodes as attractant for sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in northeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 110, n. 6, p. 801-803, Sept. 2015.

SILVA, F. S.; REBÊLO, J. M. M. Estudo preliminar sobre a fauna de *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) do Maranhão. *Cadernos de Pesquisa*, São Luís, v. 10, n. 2, p. 55-63, 1999.

SINGH, R.; TUBBS, R. S. *Confirmação histológica de aterosclerose devido a dobras e bifurcações das artérias carótidas previstas por modelo hemodinâmico*. **Jornal Vascular Brasileiro**, v.17, n.4, p.280-289, 2018. DOI: 10.1590/1677-5449.004118.

STRAUSS, R. E.; BOOKSTEIN, F. L. The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Systematic Zoology*, Washington, v. 31, n. 2, p. 113-135, 1982. Disponível em: <https://academic.oup.com/sysbio/article-abstract/31/2/113/1686158>. Acesso em: 24 jan 2026.

SOUZA, A. L. D. S. D. **Morfometria geométrica alar na identificação de mosquito (Diptera: Culicidae) com importância epidemiológica negligenciada.** Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2020. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5179/tde-04082021-112558/en.php>. Acesso em: 15 Jun. 2026.

SPINELLI, G. R.; RONDERES, M. M.; DÍAZ, F. Ceratopogonidae (Diptera). In: Brown, B. V. *et al.* (eds.) **Manual of Central American Diptera**. NRC Research Press, Ottawa, 2009.

ZANG, Y.; YAN, G.; XU, J. Geometric morphometric analysis of wing shape variation in Culicoides species. *Parasites & Vectors*, London, v. 12, n. 1, p. 1-12, 2019.

SPINELLI, G. R.; WIRTH, W. W.; FELIPPE-BAUER, M. L. *Catalogue of the New World biting midges south of the United States of America (Diptera: Ceratopogonidae). Contributions on Entomology*, International, v. 4, p. 1-107, 2005.

TORREIAS, S. R. S.; FERREIRA-KEPLER, R. L. Habitat larvais de Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) na Amazônia brasileira. *Acta Amazônica*, v. 41, n. 3, p. 391-400, 2011.

TRINDADE, R. L.; GORAYEB, I. S. Maruins (Diptera: Ceratopogonidae: *Culicoides*), após a estação chuvosa, na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Itatupã-Baquiá, Gurupá, Pará, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1 (2): p. 121-130, 2010. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/251080635_Maruins_Diptera_Ceratopogonidae_e_Culicoides_apos_a_estacao_chuvosa_na_Reserva_de_Developolvimento_Sustentavel_Itatupa-Baquia_Gurupa_Para_Brasil. Acesso em: 25 Jan 2026.

VASCONCELOS, P. F. C.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; RODRIGUES, S. G.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S.; CRUZ, A. C.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. Oropouche fever epidemic in the Brazilian Amazon. *Emerging Infectious Diseases*, v. 15, n. 6, p. 1235-1242, 2009.

ZELDITCH, MIRIAM LEAH; SWIDERSKI, DONALD L. E SHEETS, H. DAVID. Geometric Morphometrics for biologists: a primer. 2.^a ed. Oxford: **Academic Press**, 2012.

ZELDITCH, M. L.; SWIDERSKI, D. L.; SHEETS, H. D.; FINK, W. L. *Geometric morphometrics for biologists: a primer*. San Diego: **Elsevier Academic Press**, 2004.

WANG, F.; LU, X.; WANG, Z.; MA, J.; ZHOU, N.; HOU, X. *Ultrastructural and morphological observations of the external and internal structures of the adult midge *Culicoides grisescens* (Diptera: Ceratopogonidae)*. **Journal of Insect Science**, v.25, n.2, p.20, 2025. DOI: 10.1093/jisesa/ieaf041.

WIRTH, W. W.; BLANTON, F. S. *A Review of the Maruins or Biting Midges of the Genus *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in the Amazon Basin*. Belém: **Museu Paraense Emílio Goeldi**, 1973.

WIRTH, W. W.; BLANTON, F. S. **Biting midges of the genus *Culicoides* from the Southeast United States (Diptera: Ceratopogonidae)**. Washington: USDA, 1979.

WIRTH, W. W.; DYCE, A. L.; SPINELLI, G. R. An atlas of wing photographs with a summary of the numerical characters of the neotropical species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, v. 25, n. 1, p. 1-72, 1988.

WIRTH, W. W.; MARSTON, N. A Method for Mounting Small Insects on Microscope Slides in Canada Balsam. **Annals of the Entomological Society of America**, Volume 61, Issue 3, 15 May 1968, Pages 783–784, <https://doi.org/10.1093/aesa/61.3.783>.