

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LUZIVAN COSTA REIS

**EFEITO COMBINATÓRIO DE COR E INTENSIDADE LUMINOSA NA
CAPTURA DE ANOFELINOS (DIPTERA: CULICIDAE) COM ARMADILHAS
À BASE DE DIODOS EMISSORES DE LUZ (LEDs)**

Chapadinha-MA

2018

LUZIVAN COSTA REIS

**EFEITO COMBINATÓRIO DE COR E INTENSIDADE LUMINOSA NA
CAPTURA DE ANOFELINOS (DIPTERA: CULICIDAE) COM ARMADILHAS
À BASE DE DIODOS EMISSORES DE LUZ (LEDs)**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Maranhão, Centro de Ciências Agrárias e
Ambientais, como pré-requisito para obtenção
do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Francinaldo Soares Silva

Chapadinha-MA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Reis, Luzivan Costa.

Efeito combinatório de cor e intensidade luminosa nas capturas de anofelinos Diptera: Culicidae com armadilhas à base de diodos emissores de luz LEDs / Luzivan Costa Reis. - 2018.

41 f.

Orientador(a): Francinaldo Soares Silva.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2018.

1. Combinações. 2. Cores. 3. Intensidade luminosa. 4. LEDs. 5. Mosquitos. I. Silva, Francinaldo Soares. II. Título.

**EFEITO COMBINATÓRIO DE COR E INTENSIDADE LUMINOSA NA
CAPTURA DE ANOFELINOS (DIPTERA: CULICIDAE) COM O USO DE
ARMADILHAS À BASE DE DIODOS EMISSORES DE LUZ (LEDs)**

Monografia apresentada ao Colegiado do
Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Maranhão, Centro
de Ciências Agrárias e Ambientais, como
pré-requisito para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Dr. Francinaldo Soares Silva

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francinaldo Soares Silva (Orientador)

Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia
Universidade Federal do Maranhão

Ms. Luís Paulo Costa de Carvalho

Doutorando em Biologia Experimental
Universidade Federal de Rondônia

Ms. Benedita Maria Costa Neta

Mestrado em Ciências da Saúde
Universidade Federal do Maranhão

DEDICATÓRIA

Dedico essa monografia a minha família, em especial a minha avó Expedita de Oliveira Reis, meu amor por toda vida, a pessoa que sempre está ao meu lado me apoiando em todos os momentos, e que me acompanhou na vida e por toda minha caminhada acadêmica e que tenho somente a agradecer.

À Deus por ter me abençoado, permitindo que chegasse até aqui, e por ter proporcionado vitórias e me iluminando nessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela felicidade e oportunidade de poder alcançar mais um sonho em minha vida e por todas as vitórias recebidas até aqui. Ao meu orientador Prof.º Dr. Francinaldo Soares Silva excelente exemplo de ser humano que é, venho aqui expressar minha gratidão pelos conselhos, ensinamentos, amizade, compreensão, paciência e incentivo que me proporcionaram crescer cientificamente, além da confiança depositada em mim. Tenho a honra de chamá-los de Mestre. A minha família que esteve ao meu lado durante todos os momentos. A minha avó, Expedita de Oliveira Reis, pelo amor incondicional e cuidados dedicados a mim nesta trajetória. Além de todos os esforços para que eu pudesse alcançar meus objetivos, meu eterno agradecimento, dedico mais essa vitória a senhora. Aos meus irmãos, Francisco Costa Reis, Antônio Costa Reis e Elisvan Costa Reis, pelo companheirismo, amizade, carinho e incentivo durante todos os momentos. Aos meus amigos, Maria Helena dos Santos Reis, Isaías dos Santos Reis e Genival Rocha, pela amizade, companheirismo e principalmente pela disponibilidade em ajudar durante os momentos difíceis dessa caminhada acadêmica. Ao Sr. Benedito e sua esposa Dona Maria por aceitarem a realização do trabalho nas dependências da sua propriedade. Além do carinho e hospitalidade em recebe-me na sua residência. Aos componentes do Laboratório de Entomologia Médica (LEME/UFMA), Apoliana Araújo da Silva pelas valorosas contribuições nas análises estatísticas, Islana Silva Ponte, Bruna Raquel, Mayara Almeida, pelos momentos vivenciados em laboratório e no campo. Em especial agradeço a Eudimara Carvalho de Araújo pela amizade e principalmente pelas contribuições nas triagens e coletas de campo que foram fundamentais para a concretização desse estudo. Agradeço também ao João Vítor Castro Aguiar, pela assistência durante as identificações dos anofelinos e a todos do LEME. A Pró-Reitora de Assistência Estudantil (PROAES) que concedeu as bolsas, permanência e FOCO via Programa Institucional de Iniciação Científica (PIBIC/UFMA) tais recursos financeiros foram cruciais para a realização do projeto. E a todos que contribuíram diretamente e indiretamente para minha formação acadêmica.

Obrigado!!

“É melhor nos arriscarmos a alcançar triunfos e glórias mesmo expondo-nos a derrota, que formar fila com os pobres de espírito que nem sofrem muito, nem gozam muito, porque vivem nesta penumbra cinzenta, que não conhecem vitória e nem derrota.”

(Rousseau)

RESUMO

Os anofelinos são mosquitos pertencentes à ordem Diptera, família Culicidae, possui interesse médico, pois as fêmeas de algumas espécies são responsáveis por transmitir o plasmódio causador da malária. A utilização do diodo emissor de luz (LED) possui vantagens sobre a lâmpada incandescente, sendo considerada uma fonte alternativa para captura de mosquitos vetores. Entretanto, dados sobre a utilização de combinações de LEDs com diferentes cores e intensidades luminosas ainda são inexistentes. O intuito do trabalho foi avaliar o efeito combinatório de cores, intensidades luminosas de diferentes LEDs. O estudo foi realizado na região de Chapadinha-MA. As coletas foram das 18:00 às 06:00 horas com seis armadilhas luminosas dispostas em quadrado latino 6x6. As combinações de cores foram as seguintes: uma com lâmpada incandescente, verde/verde, azul/azul, azul/verde, azul e uma com verde. O LED verde apresentava a seguinte intensidade luminosa 20.000mcd e o LED azul 15.000mcd. Foram coletados 179 indivíduos de 5 espécies, sendo *A. goeldii* 18,2%, *A. argyritarsis* 17,3%, *A. triannulatus* 16, 2%, *A. darlingi* (15,1%), *A. evansae* (1,3%) os danificados *Anopheles* ssp. (31,3%). Quanto às análises, foi observado que as cores verde/verde (31,8%) e azul/verde (20,7%) foram as fontes luminosas mais atrativas. A combinação de cores e intensidade da luz foi importante para elevar o desempenho das armadilhas nas capturas. Desta forma, sugere-se o uso combinatório de LEDs com diferentes intensidades nos programas de monitoramento e controle de algumas espécies de anofelinos vetores da malária.

Palavras-Chaves: Mosquitos, Combinações, LEDs, Cores, Intensidade luminosa.

ABSTRACT

Anophelines are mosquitoes belonging to the order Diptera, family Culicidae, have medical interest, because the females of some species are responsible for transmitting the malaria-causing plasmodium. The use of the light emitting diode (LED) has advantages about the incandescent lamp being an alternative source for capture of mosquito vectors. However, data on the use of combinations of LEDs with different colors and luminous intensities to attract anopheles are still non-existent. Main purpose of this work was to evaluate the combinatorial effect of colors and luminous intensities of different LEDs. The study was carried out in the region of Chapadinha-MA. The collections were from 6:00 p.m. to 6:00 p.m. with six luminous traps arranged in 6x6 Latin square. The color combinations were as follows: one with incandescent lamp, green/green, blue/blue, blue/green, blue and one with green. The green LED had the following luminous intensity 20.000mcd and blue LED 15.000mcd. Were collected 179 individual from 5 species, being *A. goeldii* (18.2%), *A. argyritarsis* (17.3%), *A. triannulatus* (16.2%), *A. darlingi* (15.1%), *A. evansae* (1.3%). The damaged were *Anopheles* ssp. 31.3%. Regarding the analysis, it was observed that the green/green (31,8%) and blue/green (20,7%) color were the light sources more attractive. The combination of color and light intensity was important to increase the performance of the traps in the catch. . Therefore, it is suggested the combinatorial use of LEDs with different intensities in the monitoring and control programs of some species of anopheline malaria vectors.

Key words: Mosquitoes, Combinations, LED, Colors, Light intensity.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Espécies de anofelinos capturados com armadilha luminosa do tipo HP usando diodos emissores de luz e lâmpada incandescente como controle. N= Número de espécimes; % = Porcentagem.

Tabela 2. Distribuição das espécies de anofelinos. N = Número de Indivíduos; F: M = Fêmea/Macho – Razão Sexual, Total e Porcentagem (%).

Lista de Figuras

Fig. 1. Média de Indivíduos por relação sexual fêmea e macho.

Fig. 2. Média ($\pm$ SEM) das espécies capturadas na armadilha luminosa modificada com diferentes combinações de LEDs e intensidades luminosas. (Verde: 15.000mcd, Azul: 20.000mcd). (***) diferença estatística (Mann Whitney U-teste).

Reis et al.: Efeito combinatório de cor e intensidade luminosa na captura de anofelinos

Laboratório de Entomologia Médica, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, MA, 65500-000, Brazil.

Telefone: +559832729937

E-mail: francinaldosilva@ufma.br

Annals of the Entomological Society of America
Ecologia e Biologia de população

Efeito combinatório de cor e intensidade luminosa nas capturas de anofelinos (Diptera: Culicidae) com armadilhas à base de diodos emissores de luz (LEDs)

L. C. Reis¹, E. C. Araújo¹, J. V. C. Aguiar¹, A. A. Da Silva^{1,2} F. S. Silva^{1,2,3}.

1 Laboratório de Entomologia Médica, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais CCAA-UFMA, Universidade Federal do Maranhão-Campus IV, BR 222, Km 04-36 Chapadinha- MA CEP 65500-000, Brasil.

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

3 Autor Correspondente, e-mail: francinaldosilva@ufma.br

1 **Resumo.** Os anofelinos são mosquitos pertencentes à ordem Diptera, família Culicidae,
2 possui interesse médico, pois as fêmeas de algumas espécies são responsáveis por
3 transmitir o plasmódio causador da malária. A utilização do diodo emissor de luz (LED)
4 possui vantagens sobre a lâmpada incandescente, sendo considerada uma fonte
5 alternativa para captura de mosquitos vetores. Entretanto, dados sobre a utilização de
6 combinações de LEDs com diferentes cores e intensidades luminosas ainda são
7 inexistentes. O intuito do trabalho foi avaliar o efeito combinatório de cores,
8 intensidades luminosas de diferentes LEDs. O estudo foi realizado na região de
9 Chapadinha-MA. As coletas foram das 18:00 às 06:00 horas com seis armadilhas
10 luminosas dispostas em quadrado latino 6x6. As combinações de cores foram as
11 seguintes: uma com lâmpada incandescente, verde/verde, azul/azul, azul/verde, azul e
12 uma com verde. O LED verde apresentava a seguinte intensidade luminosa 20.000mcd e
13 o LED azul 15.000mcd. Foram coletados 179 indivíduos de 5 espécies, sendo *A. goeldii*
14 18,2%, *A. argyritarsis* 17,3%, *A. triannulatus* 16, 2%, *A. darlingi* (15,1%), *A. evansae*
15 (1,3%) os danificados *Anopheles* ssp. (31,3%). Quanto às análises, foi observado que as
16 cores verde/verde (31,8%) e azul/verde (20,7%) foram as fontes luminosas mais
17 atrativas. A combinação de cores e intensidade da luz foi importante para elevar o
18 desempenho das armadilhas nas capturas. Desta forma, sugere-se o uso combinatório de
19 LEDs com diferentes intensidades nos programas de monitoramento e controle de
20 algumas espécies de anofelinos vetores da malária.

21 **Palavras-Chaves:** Mosquitos, Combinações, LEDs, Cores, Intensidade luminosa.

22

23

24

25

26

27

28

29

30

Abstract. Anophelines are mosquitoes belonging to the order Diptera, family Culicidae, have medical interest, because the females of some species are responsible for transmitting the malaria-causing plasmodium. The use of the light emitting diode (LED) has advantages about the incandescent lamp being an alternative source for capture of mosquito vectors. However, data on the use of combinations of LEDs with different colors and luminous intensities to attract anopheles are still non-existent. Main purpose of this work was to evaluate the combinatorial effect of colors and luminous intensities of different LEDs. The study was carried out in the region of Chapadinha-MA. The collections were from 6:00 p.m. to 6:00 p.m. with six luminous traps arranged in 6x6 Latin square. The color combinations were as follows: one with incandescent lamp, green/green, blue/blue, blue/green, blue and one with green. The green LED had the following luminous intensity 20.000mcd and blue LED 15.000mcd. Were collected 179 individual from 5 species, being *A. goeldii* (18.2%), *A. argyritarsis* (17.3%), *A. triannulatus* (16.2%), *A. darlingi* (15.1%), *A. evansae* (1.3%). The damaged were *Anopheles* ssp. (31.3%). Regarding the analysis, it was observed that the green/green (31,8%) and blue/green (20,7%) color were the light sources more attractive. The combination of color and light intensity was important to increase the performance of the traps in the catch. . Therefore, it is suggested the combinatorial use of LEDs with different intensities in the monitoring and control programs of some species of anopheline malaria vectors.

Key words: Mosquitoes, Combinations, LED, Colors, Light intensity.

Os mosquitos conhecidos como anofelinos pertencem à ordem Diptera, família Culicidae, subfamília Anophelinae e gênero *Anopheles* (Reinert 2009). Os anofelinos possuem interesse na saúde pública, pois algumas espécies são responsáveis pela transmissão do gênero *Plasmodium* causador da malária. O gênero *Anopheles* conta com as principais espécies que possuem capacidade de vetorial a malária, distribuem-se em seis subgêneros, os quais, cinco estão na região neotropical, sendo: *Anopheles* Meigen, 1818; *Stethomya* Theoblad, 1902; *Nyssorhynchus* Blanchard, 1902; *Lophodomia* Antunes, 1937 e *Kerteszia* Theoblad, 1905 (Harbach e Kitching 2016).

No Brasil as espécies que transmitem o plasmódio são: *A. bellator* Dyar e Knab, 1906; *A. albitarsis* Lynch Arribálzaga, 1878; *A. aquasalis* Curry, 1932; *A. darlingi* Root, 1926 e *A. cruzii* Dyar e Knab, 1908 (Rebêlo et al. 2007). As principais espécies responsáveis pela transmissão da malária estão nos subgêneros *Kerteszia* e *Nyssorhynchus*. Além disso, as fêmeas são as únicas capazes de transmitir o plasmódio (Godfray, 2013). No Maranhão as espécies transmissoras do *Plasmodium* da malária são *A. aquasalis* e *A. darlingi* (Rebêlo et al. 2007; Costa-Neta et al. 2017).

As espécies de anofelinos tanto as fêmeas, quanto os machos se alimentam de glicose e outros açúcares, mas a fêmea pratica hematofagia quando necessita desenvolver os ovários e maturar os óvulos (Godfray 2013). As fêmeas alimentam-se do sangue de vários indivíduos desde aves até mamíferos, e outras espécies apresentam preferência em se alimentar de sangue humano (Marcondes 2001). Esses insetos possuem hábitos crepusculares e noturnos, costumam ficar em repouso em locais quentes, sombreados e úmidos, escondidos da luz excessiva, da ação do vento e dos possíveis predadores naturais, no crepúsculo as fêmeas saem dos abrigos em busca de outros indivíduos para fazer o repasto sanguíneo, orientam-se através de substâncias químicas como odores ou cairomônios (Ferreira e Luz 2003, Marassá et al. 2004, Verhulst, et al. 2011).

O monitoramento vetorial está dentro das estratégias mais usadas pela vigilância epidemiológica, objetivando realizar o rastreamento e identificação dos possíveis focos de transmissão de doenças (Silva et al. 2010). Diversas técnicas são usadas para coletas de anofelinos como atração humana ou animais, Ifakara Tent Trap (ITT), armadilhas luminosas do tipo CDC (Centers for Disease Control and Prevention), substâncias atrativas como CO₂, suor, odores de animais entre outras e quando combinadas com

Mosquito Landing Box (MLB) e *Resting Box* (RB) BG sentinel, barraca de Shannon, as quais são mais conhecidas e usadas (Forattini 2002, Gama et al. 2013, Lima et al. 2014).

O principal método para captura de anofelinos é atração humana, porém tem desvantagem relação a exposição do coletor ao perigo de adquirir infecção por diferentes agentes etiológicos (Ministério da Saúde 2006, Gama et al. 2013). O método de captura de armadilha luminosa com lâmpada incandescente convencional que emite 94% de luz infravermelha, porção do espectro invisível para a maioria dos insetos, os 6% que restam libera emissões fracas de verde, vermelho azul, o vermelho é invisível para maioria dos insetos (Briscoe e Chittka 2001).

A otimização e eficiência da armadilha luminosa com uso de LEDs ou diodos emissores de luz, em substituição a lâmpada incandescente traz algumas vantagens, uma vez que é mais durável, baixo custo, maior resistência, são mais econômicos, podem substituir gastos com pilhas ou baterias, funcionam em período maior que a lâmpada convencional, liberam menos calor e são muito menores, além disso, eles variam de 350nm a 700nm, isolados emitem uma porção do espectro luminoso, inclusive o ultravioleta que é importante na atratividade dos insetos vetores (Cohnstaedt et al. 2008).

No Brasil alguns trabalhos buscavam mais uma alternativa de uso do LED para as capturas de insetos vetores, como foi observado por vários autores (Silva 2014, Silva et al. 2015, Silva et al. 2016, Costa-Neta et al. 2017). Estes autores notaram que os LEDs de cores azuis e verdes atraíram mais insetos quando comparados com a lâmpada convencional. Outro estudo teve como objetivo entender a resposta de insetos vetores à diferentes intensidades luminosas, onde observou-se que houve diferença entre LEDs azul e verde (Lima-Neto et al. 2017).

Resultados contrários foram encontrados por Tchouassi et al. (2012) no qual observaram que as lâmpadas incandescentes foram mais atrativas do que os LEDs, porém, fatores abióticos podem ajudar na redução da intensidade de luz emitida pelos LEDs, sendo que os resultados mudam dependendo do ambiente e das espécies estudadas, pois os insetos podem ser atraídos por LEDs de cor específica, tendo assim, uma preferência por determinado espectro luminoso (Hoel et al. 2007, Kim et al. 2016).

Com relação à preferência a determinada cor e a intensidade luminosa, os insetos possuem células fotorreceptoras que podem alterar suas sensibilidades ao espectral (Briscoe e Chittka, 2001). Outros trabalhos observaram que a cor mais a intensidade luminosa pode alterar a atratividade das armadilhas, dessa forma mostra-se mais eficaz

129 para atrair e capturar insetos. Nesse estudo os LEDs azuis de 15.000mcd e 20.000mcd
130 se sobressaíram nas capturas de flebotomíneos (Lima-Neto et al. 2017). Em outro
131 trabalho os LEDs verde de 20.000mcd foi mais atrativo e eficiente (Silva et al. 2015 a).
132 Mostrando que a intensidade luminosa tem influência nas capturas de insetos vetores.

133 Em relação ao efeito combinatório de cores dos LEDs e intensidades luminosas
134 para otimização das capturas dos anofelinos, os trabalhos na literatura são inexistentes.
135 Diante disso, há necessidade de ser conhecer como ocorre a atração dos anofelinos ao
136 LEDs principalmente em áreas onde ocorrem os anofelinos. Dessa forma o presente
137 estudo visa averiguar o efeito combinatório do número, cor e intensidade luminosa em
138 armadilhas luminosas, com o intuito de verificar se existe alguma influência das
139 combinações de LEDs com diferentes cores e intensidades nas capturas desses
140 mosquitos.

141

142 **Materiais e Métodos**

143 **Área de estudo.** O cerrado maranhense está localizado em uma área de transição
144 entre o Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil, com aproximadamente 10 milhões de
145 hectares e um total de 30% da área do Estado do Maranhão, reunindo 33 municípios,
146 onde 69,69% estão em áreas totalmente cobertas por vegetação típica do cerrado (Portal
147 Brasil, 2007). O estudo foi realizado no município de Chapadinha, localizado a
148 3°44'17'' LS e 43°20'29'' LW com extensão territorial abrangendo uma área de
149 3.247,383 km² (IBAMA 2006). A área de experimento foi no povoado São Raimundo,
150 na fazenda Vila Emídio, localizada a 32 km da sede do município. A área possui altitude
151 de 100 m acima do nível do mar, apresentando clima tropical semi-úmido com
152 temperatura média variando de 28 °C a 30°C e precipitação média anual de 1600 a 2000
153 milímetros, com valores de evapotranspiração cerca de 1140mm³. A estação seca
154 estende-se de agosto a novembro e a chuvosa de dezembro a julho (Nogueira et al.
155 2012).

156 A vegetação do local é constituída por árvores frutíferas, palmeiras e mata
157 próxima ao local da coleta. Dentre os animais, destacam-se galinhas, gansos, perus,
158 gados, cães, equinos que circulam livremente pela área. O local de captura está a 600 m
159 da residência principal da fazenda, e caracteriza-se por possuir área aberta com animais
160 de grande porte como equinos e bovinos que em alguns momentos encontram-se
161 localizados em seus abrigos, presos no curral, ou livres pelo local.

162 **Delineamento Experimental.** Para captura dos insetos foi usado um total de seis
163 armadilhas luminosas do tipo HP (Hoover Pugedo) (Pugedo et al. 2005), das quais cinco
164 foram modificadas e uma armadilha convencional à base de lâmpada incandescente foi
165 usada como controle. As armadilhas receberam LEDs no lugar das lâmpadas
166 incandescentes. As combinações dos LEDs foram: verde/verde, azul/verde, azul/azul,
167 verde e uma com LED azul. Todos os LEDs possuíam um tamanho de 5 mm, de alto
168 brilho. Os de cores verdes são de 520 nm e com intensidade luminosa de 20.0000mcd e
169 os de cores azuis são de 470 nm e 15.000mcd.

170 As coletas foram realizadas em dias alternados, no período de setembro a
171 novembro de 2017, na estação seca, compreendendo 23 coletas, em um esforço de 1584
172 horas de trabalho. As armadilhas foram expostas no local de estudo às 18:00 horas e
173 recolhidas às 6:00 horas da manhã seguinte, dispostas a 1.5 metros de altura acima do
174 solo, com uma distância de 50 metros entre elas. As armadilhas estavam arranjadas de
175 acordo com o delineamento em quadrado latino 6x6.

176 Em cada noite de captura, era realizado sorteio, onde as fontes luminosas tinham
177 suas posições trocadas, respectivamente, em que cada armadilha tinha que passar em
178 todos os diferentes pontos de coleta, com intuito de se evitar prováveis fatores que
179 pudessem mascarar os resultados, como presença de troncos de árvores, residência
180 humana, proximidade com os abrigos de animais, entre outros.

181 Após 12 horas de captura, os insetos foram transportados para o Laboratório de
182 Entomologia Médica (LEME) do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (CCAA),
183 da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) campus de Chapadinha. No laboratório
184 foram feitas as triagens para separação dos anofelinos, logo após foram acondicionados
185 a seco, todos devidamente etiquetados, constando local, data e quantidade de espécimes,
186 e posteriormente foram identificados segundo a chave de Consoli e Oliveira (1994).
187 Todos os mosquitos coletados foram depositados na coleção entomológica da
188 Universidade Federal do Maranhão.

189 **Análises Estatísticas.** Os dados desse estudo foram analisados com a utilização
190 do teste Komogorov-Smirnov para análise de normalidade. O teste não paramétrico
191 Kruskal-Wallis e o Mann-Whitney foram usados para avaliar anormalidade da
192 distribuição dos dados. As médias foram significantes quando $p < 0,05$. Quando a
193 normalidade não era atendida, os dados eram transformados em Log_{10} pouco antes da
194 análise.

195 Resultados

196 Foi coletado um total de 179 exemplares de cinco espécies, todos pertencentes
 197 ao gênero *Anopheles*, sendo: *A. goeldii* 18,2%, sendo a espécie mais abundante junto
 198 com *A. argyritarsis* 17,3%, *A. triannulatus* 16,2%, *A. darlingi* 15,1% *A. evansae* 1,7%,
 199 *Anopheles* spp. 31,3% e (Tabela 1). A frequência dos machos foi menor, representado
 200 por 14,5% da população, já as fêmeas corresponderam a 85,5% do total de indivíduos
 201 capturados (Figura 1).

202 No presente estudo, foi avaliado o efeito combinatório de deferentes LEDs com
 203 distintas intensidades, notou-se que a combinação da cor verde/verde com 20.000mcd
 204 cada, foi a que capturou o maior número de indivíduos 31,8%, seguindo do azul/verde
 205 que juntos totalizam 35.000mcd capturou 20,7%, azul/azul de 25.000mcd as duas
 206 intensidades próximas obtiveram 17,9%, verde de 20.000mcd com 11,2%, azul de
 207 15.000mcd 14,5%, e a menor atratividade foi a lâmpada incandescente usada como
 208 controle, com apenas 3,7% dos exemplares coletados (Tabela 1).

209 Comparando o número médio de indivíduos capturados entre as cores: controle e
 210 azul/verde houve diferenças ($P= 0,0108$; $U= 165,0$), verde/verde em relação ao verde
 211 ($P= 0,00030$; $U= 129$), e o controle comparado ao verde/verde também apresentou
 212 diferenças ($P= 0,0001$; $U= 100$) como mostra a Figura 2. Com relação a razão sexual
 213 por espécie a proporção foi *A. darlingi* com fêmeas 10,5: 1; *A. triannulatus* 8, 3:1; *A.*
 214 *argyritarsis* 4,6: 1; *A. goeldii* 3,6: 1; *Anopheles* spp. 5,25: 1 e *A. evansae* 3: 0 sendo a
 215 menor razão sexual entre fêmeas e machos (Tabela 2). A proporção geral de fêmeas por
 216 machos foi 25, 5:1- ($P= 0,0023$; $U= 118$), conforme mostra a tabela 2.

217 Considerando a quantidade de indivíduos em relação a combinação de cores, a
 218 que obteve maior atratividade nas capturas dos anofelinos foi o verde/verde, seguida
 219 pelo azul/verde, azul/azul, azul, verde e o que obteve a menor atração foi o controle
 220 como mostra a Figura 2. Em relação ao número de espécies capturadas houve diferenças
 221 entre *A. darlingi* e *A. evansae* ($P= 0,0002$; $U= 96$), comprando *A. goeldii* com *A.*
 222 *evansae* ($P= 0,0134$; $U= 153$), as demais espécies não apresentaram diferenças
 223 estatísticas (Figura 2).

224 Na análise do número de espécies por tratamentos, foi observado que o
 225 verde/verde capturou 16 indivíduos de *A. triannulatus*, seguido por 10 *A. goeldii*, 6 *A.*
 226 *darlingi*, no azul/verde a espécie mais encontrada foi 10 de *A. argyritarsis*, 6 *A.*
 227 *darlingi*, 8 *A. goeldii*, já azul/azul coletou 4 espécimes de *A. argyritarsis* e 3 de *A.*

228 *darlingi*, já as demais cores: verde, azul e controle capturaram um número de espécies
229 muito menor.

230

231 **Discussão**

232 Alguns espécimes coletados estavam danificados, impossibilitando suas
233 identificações, visto que os danos nas estruturas desses insetos muitas das vezes podem
234 ser atribuídos ao uso das formas convencionais de armadilhas luminosas (Gama et al.
235 2007). As espécies relatadas neste trabalho, já foram descritas no Maranhão (Rebêlo et
236 al. 2007). Outro trabalho relata *A. argyritarsis*, *A. goeldii*, *A. triannulatus* como mais
237 frequentes na região de Chapadinha (Costa-Neta et al 2017).

238 *Anopheles (Nyssorhynchus) evansae* representou 35,2% sendo a mais coletada
239 (Costa-Neta et al. 2017). Para essa espécie a porcentagem no presente estudo foi
240 diferente, porém as demais espécies: *A. triannulatus*, *A. goeldii*, *A. darlingi* e *A.*
241 *argyritarsis* tiveram exemplares encontrados para a região Chapadinhense.

242 Na presente pesquisa as espécies mais frequentes foi *A. goeldii* e *A. triannulatus*
243 assemelhando ao estudo realizado por Costa-Neta et al. (2017). A presença das espécies
244 pode ser explicada pelas características bióticas e abióticas do ambiente que facilita suas
245 ocorrências, tais como aberto, seco, úmidos, sombreado e com áreas devastadas,
246 mostrando que essas espécies estão adaptadas a vários tipos de ambientes (Godfray
247 2013).

248 A espécie *A. darlingi* foi abundante, sendo ela considerada uns dos vetores da
249 malária no Brasil. Além da *A. darlingi* que é capaz de transmitir o plasmódio da malária,
250 no Maranhão foi encontrado *A. aquasalis* (Rebêlo et al. 2007)

251 A predominância de fêmeas tanto no geral, quanto por espécies foi evidente,
252 visto que a proporção sexual entre fêmeas e machos pode ser explicada pela atividade de
253 repasto sanguíneo necessário para que as fêmeas possam fazer a maturação dos seus
254 ovos, presença dos animais hospedeiros e seus cairomônios que as orientaram até o
255 hospedeiro vertebrado (Meijerink et al. 2000, Verhulst et al., 2011).

256

257 A utilização dos LEDs tem sido incentivada por suas numerosas vantagens sobre
258 as fontes de luz convencionais usadas para capturar insetos vetores (Jenkins e Young

259 2010, Silva et al. 2015 a b, Kim et al 2016, Silva et al, 2016). No presente trabalho, as
260 armadilhas usadas com combinações de diferentes LEDs e intensidades distintas, foram
261 as fontes de luzes que se sobressaíram em relação a lâmpada incandescente
262 convencional, apresentando diferenças estatísticas.

263 De acordo com Silva (2014) os LEDs azuis e verdes atraíram muito mais
264 insetos, semelhante ao que foi observado nesse estudo. No entanto, nessa pesquisa foi
265 utilizado a combinação de verde/verde e verde/azul que se mostraram mais atrativos
266 tanto em relação a lâmpada convencional, quanto ao LEDs usados separadamente nas
267 armadilhas (Silva et al. 2016, Costa-Neta et al. 2017). Tais resultados foram parecidos
268 onde o uso de LED verde-azul foram as fontes luminosas que mais atraíram mosquitos
269 que fazem atividades hematofágicas.

270 As atrações dos mosquitos anofelinos pelas combinações de LEDs verde/verde,
271 podem ser explicadas pelo contraste das cores dos LEDs, pois a atração à luminosidade
272 está relacionada com sensibilidade dos receptores nos olhos, a sensibilidade dos
273 anofelinos a luz está entre os comprimentos de onda 350 a 600nm, sendo assim, a visão
274 é importante na atração (Alan et al. 1987, Briscoe e Chittka 2001).

275 De forma geral, foi observado a eficiência do LEDs verde/verde sobre a luz
276 incandescente convencional, isso ocorreu devido ao comprimento de onda da luz verde
277 que produz maior contraste com o plano de fundo do que a luz incandescente (Costa-
278 Neta et al. 2017). Além do comprimento de onda usamos as combinações de
279 intensidades luminosas que favoreceu maior atração para as fontes luminosas
280 verde/verde e azul/verde, visto que atratividade dos LEDs é afetada positivamente ou
281 negativamente por diferentes intensidades luminosas (Lima-Neto et al. 2017).

282 Com uso dessas diferentes intensidades combinadas notamos que houve maior
283 atração para essas fontes luminosas, um fato importante que nos ajuda a compreender tal
284 acontecimento é que a grande maioria dos insetos de hábitos noturnos possui uma visão
285 tricromática, resultado do comprimento de onda azul, ultravioleta e verde (Briscoe e
286 Chittka 2001). O presente trabalho está de acordo com essa característica biológica,
287 quando foi observado que as junções de cores e intensidades luminosas dos LEDs
288 verde/verde e azul/verde foram eficientes na atração dos mosquitos.

289 Portanto, esses resultados corroboram com os estudos de Silva et al. (2015b) no
290 qual o LED verde foi eficiente e atraente na captura de flebotomíneos comparado com o

291 LED azul, podendo esse acontecimento ser explicado pelo efeito da luminosidade ou
292 iluminância, visto que o LED verde apresentava uma intensidade luminosa de
293 15.000mcd, já o LED azul tinha apenas 6.000mcd. Porém Silva et al. (2015 a) não usou
294 a combinação dessas intensidades nas armadilhas. No presente estudo os LEDs
295 verde/verde, tinham 20.000mcd, provavelmente juntos formam 40.000mcd, o azul/verde
296 com 15.000mcd totalizando possivelmente 35.000mcd, intensidades superiores as
297 usadas nos estudos anteriores, mostrando que as combinações das cores dos LEDs são
298 mais intensas juntas com a luminosidade, por isso atraiu mais anofelinos.

299 A presente pesquisa demonstra a influência da combinação de cores e
300 intensidades luminosas na captura de anofelinos, demonstrando que conforme é
301 adicionado dois LEDs ou mais, e aumenta-se a intensidade luminosa da armadilha, mais
302 indivíduos são atraídos, tanto nos LEDs de cor verde/verde quanto os de cor azul/verde,
303 sendo possível notar um crescimento gradativo no número de anofelinos à medida que
304 se eleva a intensidade luminosa dos LEDs.

305 Dessa forma os trabalhos anteriores (Silva et al. 2016, Costa-Neta et al. 2017,
306 Lima-Neto et al. 2017) demonstraram que não é só cor a única que influencia a
307 atratividade dos insetos, mais a intensidade luminosa dos LEDs influencia a atração e
308 captura. Cabe ressaltar que esses autores não utilizaram em seus estudos as combinações
309 de cores de LEDs nem diferentes intensidades luminosas combinadas. Contudo estudos
310 adicionais devem ser realizados para verificar os reais efeitos das combinações de cores
311 nas capturas dos insetos vetores.

312 A combinação de cores e intensidades luminosas podem ser fatores relevantes
313 para atração e captura de anofelinos. Pois a medida que é adicionado cores e aumenta-se
314 a intensidade luminosa tem-se tendências a atração de mais mosquitos. Portanto, é de
315 suma importância compreender as diferentes formas de combinações de LEDs e suas
316 intensidades luminosas como métodos mais atrativos, visto que isso irá agregar dados
317 sobre o comportamento e biologia das espécies de anofelinos e seus habitat. E perceber
318 assim, quais os fatores que podem modificar de forma negativa ou positiva nas
319 armadilhas. Tais resultados aqui encontrados irão ajudar no direcionamento dos
320 programas de vigilância, monitoramento e controle de insetos vetores de doenças, pois
321 poderemos utilizar as combinações das cores e intensidades dos LEDs para ser obter
322 mais atração e melhorias nas capturas dos anofelinos.

323 **Agradecimentos**

324 Ao Sr. Benedito e família que nos cedeu sua propriedade para realização desta
325 pesquisa. LCR agradece a Pró-Reitoria de Assistência Estudantil (PROAES) pela bolsa
326 concedida via Programa Institucional de Iniciação Científica/Universidade Federal do
327 Maranhão (PIBIC/UFMA).

328

329

330

331

332

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343

344

345

346 **Referências Citadas**

- 347 **Allan, L. B. A. 1987.** Physics of mosquito vision an overview. J. Am. Mosq. Contr.
348 Assoc. 10: 266-271.
- 349 **Briscoe, A. D., e L. Chittka. 2001.** The evolution of color vision in insects. Annu Rev
350 Entomol. 06: 471-510.
- 351 **Consoli, R. A. G. B., Oliveira, R. L. 1994.** Principais Mosquitos de Importância
352 Sanitária 267 no Brasil. 1 ed. Fiocruz.
- 353 **Cohnstaedt, L., J. I. Gillen, e L. E. Munstermann. 2008.** Light-Emitting diode
354 technology improves insect trapping. J Am Mosq Assoc. 24: 331-334.
- 355 **Costa-Neta, B. M. Da Silva, A. A., Brito, J. M, Moraes, J. L. P, Rebêlo, J. M. M.,**
356 **Silva, F. S. 2017.** Linght-Emitting doide (LED) traps improve the light-trapping
357 of Anopheline mosquitoes. J Med Entomol. 54 (6): 1699- 1703. Doi:
358 10.1093/jme/tjx148.
- 359 **Ferreira, S. R., Luz, E. 2003.** Malária no Estado do Pará – Aspectos históricos e
360 prognose. 2002 Acta Biologica Paranaense, 32: 129 - 156.
- 361 **Forattini, O. P. 2002.** Culicidologia Médica volume 2- Identificação, Biologia,
362 Epidemiologia. Editora da Universidade de São Paulo – Edusp, São Paulo SP,
363 860p.
- 364 **Gama, R. A., Andrade, A. J., Andrade, M. R., Resende, M. C., Eiras, A. E. 2007.**
365 Avaliação da armadilha HP iscada com diferentes taxas deliberação de octenol
366 na captura de 43 anofelinos (Diptera: Culicidae) em Brejo do Mutambal.
367 Município de Varzelândia, Estado de Minas Gerais. Soc Bras de Med Trop, 40:
368 408-410.
- 369 **Gama, R. A, Da Silva, I. M., Geier, M., Eiras, A. E. 2013.** Development of the bg
370 malaria trap as an alternative to human-landing catches for the capture of
371 *Anopheles darlingi*. Memória Instituto Oswaldo Cruz, 108: 763-771.
- 372 **Godfray, H. C. J.2013.** Mosquito ecology and control of malaria. J. of Ani Ecol, 82:
373 15- 25.
- 374 **Hoel, D. F., J. F. Butler, E. Y. Fawas, N. Watany, S. S. El-Hossary, J. Villinski.**
375 **2007.** Response of phlebotomine sand flies to light-emitting diodemodified light
376 traps in southern Egypt. J Vect Ecol. 32: 302-308.

- 377 **Harbach, R. E., Kitchin, I. J. 2016.** The phylogeny of Anophelinae revisited:
 378 inferences about the origin and classification of Anopheles (Diptera: Culicidae).
 379 Zoo Script, 45, 34-47.
- 380 **IBAMA. 2006.** Laudo socioeconômico e biológico para a criação da reserva de chapada
 381 limpa. Gerência Executiva I IBAMA- Maranhão. Centro Nacional de Populações
 382 Tradicionais – CNPT/MA, 80p.
- 383 **Jenkins, A. B., and Young, M. B. 2010.** Investigation of *Culicoides* spp. Preference for
 384 light colour and source using light emitting diodes and fluorescent light. S. Afr.
 385 J. Anim. Sci. 40: 514- 518.
- 386 **Lima, J. B. P.; Rosa-Freitas, M. G.; Rodovalho, C. M.; Santos, F.; Lourenço-De**
 387 **Oliveira, R. 2014.** Is there an efficient trap or collection method for sampling
 388 *Anopheles darling* and other malaria vectors that can describe the essential
 389 parameters affecting transmission dynamics as effectively as human landing
 390 catches? – A review. Memória Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 109 (5):
 391 685-705.
- 392 **Lima-Neto, A. R., Costa-Neta, B. M., Da Silva, A. A., Brito, J. M., Aguiar, J. V. C.**
 393 **Ponte, I. S., Silva, F. S. 2017.** The effect of luminous intensity on the attraction
 394 of phlebotomine sand flies to light traps. J Med Entomol. doi:
 395 10.1093/jme/tjx229.
- 396 **Marcondes C. B. 2001.** Entomologia Médica e Veterinária. São Paulo, Atheneu. 432p.
- 397 **Meijerink, J.; Braks, M. A. H. Brack, A. A.; Adam, W.; Dekker, T.; Posthumus,**
 398 **M. A.; Van Beek, T. A.; Van Loon, J. J. A. 2000.** Identification of Olfactory
 399 stimulants for *Anopheles gambiae* from human sweat samples. J. Chem Ecol, 26
 400 (6) 1367-1382.
- 401 **Marassá, A. M., Consales C. A., Galati, E. A. B. 2004.** Padronização da técnica de
 402 ELISA de captura, no sistema avidiano-biotina para a identificação do sangue
 403 ingerido por *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912). Rev da Soc Bras de
 404 Med Trop, 37 (6): 441-446.
- 405 **Ministério da Saúde. 2010.** Ações de controle da malária. Manual para profissionais de
 406 saúde na atenção básica, 2ª edição. Brasileira, 50p.
- 407 **Nogueira, V. F. B., M. F. Correia, V. S. Nogueira. 2012.** Impacto do Plantio de Soja e
 408 do Oceano Pacífico Equatorial na Precipitação e Temperatura na Cidade de
 409 Chapadinha-MA. Rev Bras Geog Fis. 03: 708-724.

- 410 **Portal Brasil. 2007.** Tipos de cerrado. Disponível no site:
 411 http://www.portalbrasil.net/cerrado_tipos.htm. Acesso em 11 de novembro de
 412 2017.
- 413 **Pugedo, H., R. A. Barata, J. C. França-Silva, J. C. Silva, E. S. Dias. 2005.** HP: um
 414 modelo aprimorado de armadilha luminosa de sucção para a captura de pequenos
 415 insetos. Rev Soc Bras Med Trop. 38: 70-72.
- 416 **Kim, H. C., Kim, M. S., Choi, K. S., Hwang, D. U.; Johnson, J. L., Klein, T. A.**
 417 **2016.** Comparison of adult mosquito black-light and light-emitting diode traps at
 418 three cowsheds located in malaria-endemic areas of the Republic of Korea. J
 419 Med Entomol, (0), 1-8.
- 420 **Rebêlo, J. M. M., Morais, J. L. P., Alves, G. A., Leonardo, F. S., Rocha, R. V.,**
 421 **Mendes, W. A, Costa, E., Câmara, L. E. M. B., Silva, M. J. A., Pereira, Y. N.**
 422 **O., Mendonça, J. A. C. 2007.** Distribuição das espécies do gênero *Anopheles*
 423 (Diptera, Culicidae) no Estado do Maranhão, Brasil. Cad Saúde Pú, Rio de
 424 Janeiro, 23: 2959-2971.
- 425 **Silva, F. S., L. P. C. Carvalho, F. P. Cardozo, J. L. P. Moraes, e J. M. M. Rebêlo.**
 426 **2010.** Sand flies (Diptera: Psychodidae) in a cerrado area of the Maranhão state,
 427 Brazil. Neotrop Entomol. 39: 1032 - 1038.
- 428 **Silva, J. S., Couri, M. S., Giupponi, A. P. L. A. Alencar, J. 2014.** Mosquito fauna of
 429 the Guapiaçu Ecological Reserve, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil,
 430 collected under the influence of different color CDC light traps. J. Vect Ecol, 39:
 431 384-394.
- 432 **Silva, F. S., J. M. Brito, e B. M. Costa-neta. 2015a.** Field evaluation of light-emitting
 433 diode as attractant for blood-sucking midges of the genus *Culicoides* latreille
 434 (Diptera: Culicomorpha, Ceratopogonidae) in the Brazilian savanna. Entomol
 435 News. 125: 1-6.
- 436 **Silva, F. S., J. M. Brito, B. M. Costa-neta, e S. E. P. D. Lobo. 2015b.** Evaluation of
 437 light-emitting diodes as attractant for sandflies (Diptera: Psychodidae:
 438 Phlebotominae) in northeastern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.
 439 110 (6): 801-803.
- 440 **Silva, F. S., A. A. Silva, J. M. M. Rebêlo. 2016.** An evaluation of light-emitting (LED)
 441 traps at capturing Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in a livestock
 442 área in Brazil. J Med Entomol. 0 (0): 1-5.

443 **Tchouassi, D. P.; Sang, R., Sole, C. L., Bastos, A. D. S., Cohnstaedt, L. W., Torto,**
444 **B. 2012.** Trapping of Rift Valley Fever (RVF) vectors using Light Emitting
445 Diode (LED) CDC traps in two arboviral disease hot spots in Kenya. *Parasit &*
446 *Vect*, (0) 5-94.

447 **Verhulst, N. O., Qiu, Y. T., Beijleveld, H., Maliepaard, C., Knights, D., Schulz, S.,**
448 **Berg-Lyons, D., Lauber, C. L., Verduijn, W. Haasnoot, G. W., Mumm, R.,**
449 **Bouwmeester, H. J., Claas, F. H. J., Dicke, M., Van Loon, J. J. A.; Takken,**
450 **W., Knight, R., Smallegange, R. C. 2011.** Composition of Human Skin
451 Microbiota Affects Attractiveness to Malaria Mosquitoes. *Plos One*, v 6 n. 12.
452
453
454
455
456
457
458
459
460

Tabela 1. Espécies de anofelinos capturados com armadilha luminosa do tipo HP usando diodos emissores de luz e lâmpada incandescente como controle. N= Número de espécimes; % = Porcentagem.

ESPÉCIES	AZUL	AZUL/ AZUL	VERDE/ VERDE	VERDE	AZUL/ VERDE	CONTROLE	TOTAL (%)
<i>A. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	0	0	2	0	1	0	3 (1,7)
<i>A. (Nys.) triannulatus</i> (Neiva and Pinto, 1922)	4	2	16	5	2	0	29 (16,2)
<i>A. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom and Gabaldón, 1941)	5	6	10	3	8	0	33 (18,4)
<i>A. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	4	9	8	0	10	1	31 (17,3)
<i>A. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)	5	3	5	6	6	0	27 (15,1)
<i>Anopheles</i> ssp. *	8	8	20	6	13	2	56 (31,3)
Número de espécimes	26	28	61	20	40	1	179
Porcentagem	14,5%	17,9%	34,1%	11,2%	22,3%	2,2%	100.0

Tabela 2. Distribuição das espécies de anofelinos. N = Número de Indivíduos; F: M = Fêmea/Macho – Razão Sexual, Total e Porcentagem (%).

ESPÉCIES	F:M	TOTAL (%)
<i>A. (Nys.) evansae</i> (Brethés, 1926)	3:0	3 (1,7)
<i>A. (Nys.) triannulatus</i> (Neiva and Pinto, 1922)	8,3:1	29 (16,2)
<i>A. (Nys.) goeldii</i> (Rozeboom and Gabaldón, 1941)	3,3:1	33 (18,4)
<i>A. (Nys.) argyritarsis</i> (Robineau Desvoidy, 1827)	4,6:1	31 (17,3)
<i>A. (Nys.) darlingi</i> (Root, 1926)	10,5:1	27 (15,1)
<i>Anopheles</i> ssp. *	5,25:1	56 (31,3)
TOTAL	1,5:1	179 (100)

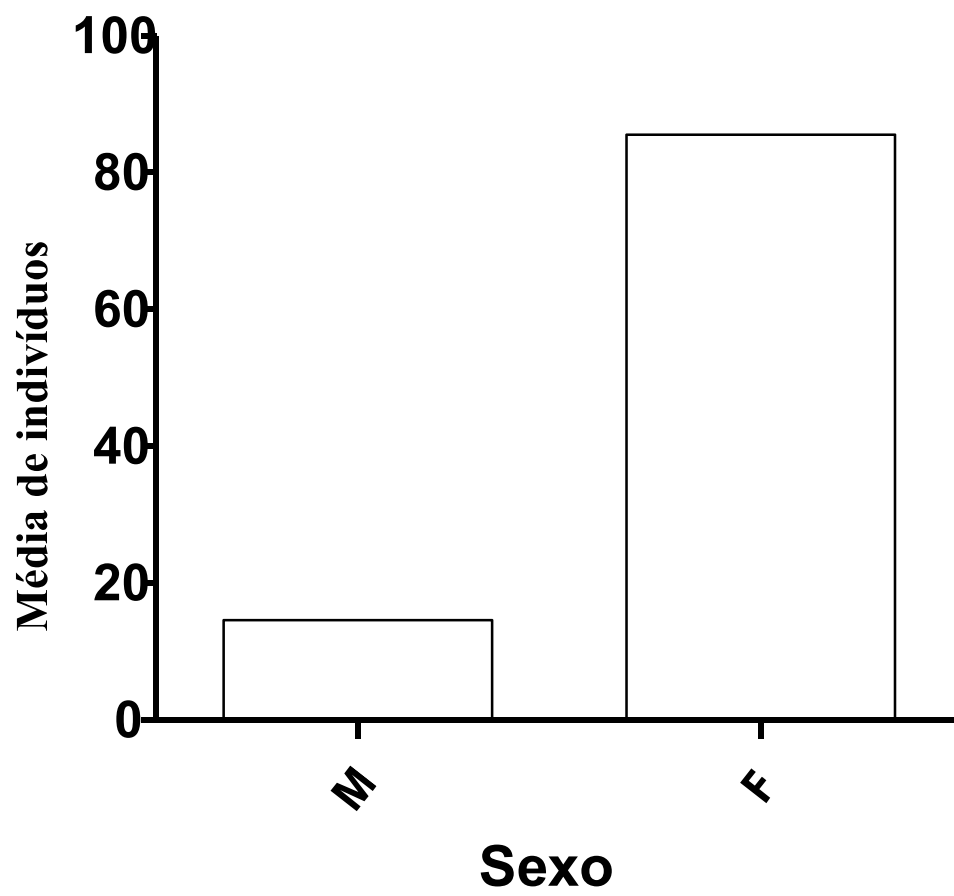


Fig. 1.

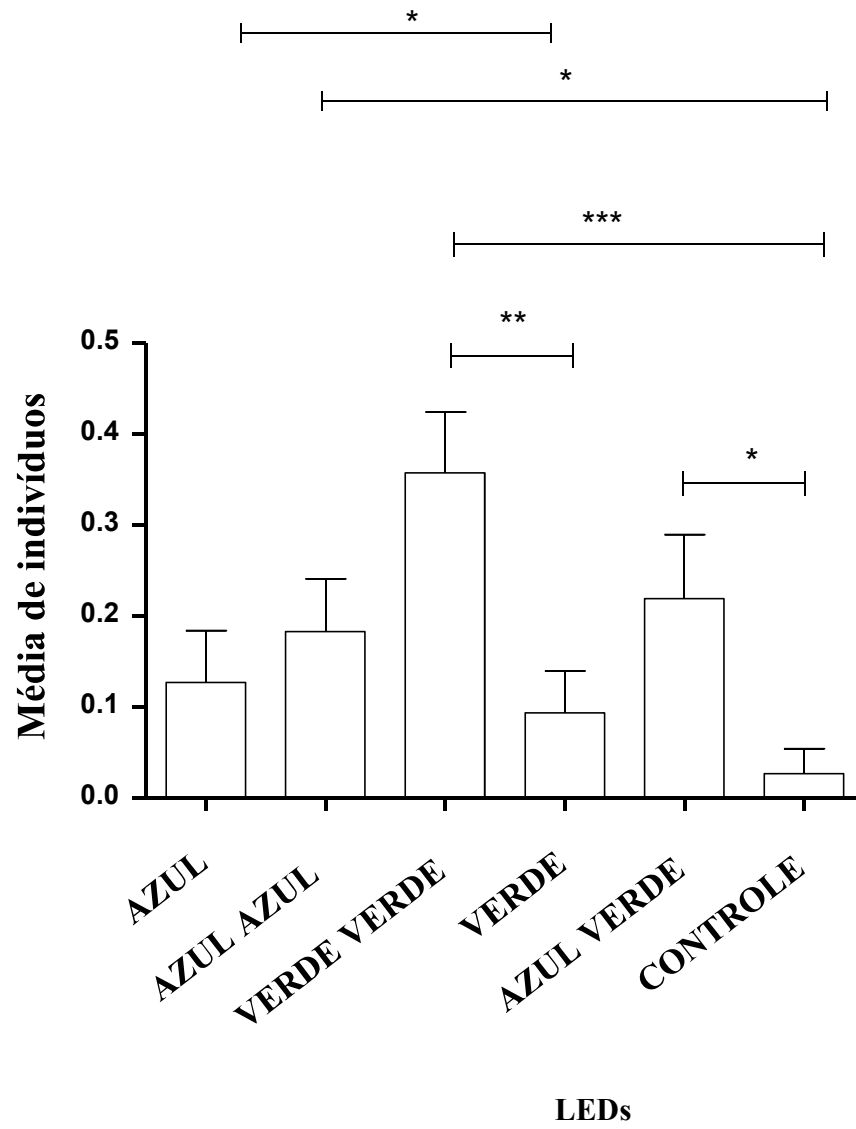


Fig. 2.

MANUSCRIPT PREPARATION

SUBMIT YOUR MANUSCRIPT

You can submit your manuscript using our online submission system, ScholarOne.

MANUSCRIPT PREPARATION

In order to comply with the requirements of the International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN) with regard to nomenclatural works, ALL articles, regardless of whether they include nomenclatural information, that are published in *Annals of the Entomological Society of America* will be immutable from October 1, 2015; this means that no changes will be allowed to any article without the publication of an erratum clearly stating the changes that have been made. Therefore, it is the responsibility of the authors to carefully check their proofs for accuracy, and to notify the publisher of any changes that are necessary prior to Advance Access publication. You will be asked during the submission process whether your article contains a nomenclatural act. If it does, in order to comply with ICZN regulations, the Editorial Office will register your article in ZooBank on your behalf and will insert a nomenclatural statement, which includes a Life Science Identifier (LSID), into the article. Your article will also include the online publication date, and the statement “Version of Record, first published online [online publication date], with fixed content and layout in compliance with Art. 8.1.3.2 ICZN.” Following publication, the Editorial Office will update your ZooBank entry with the DOI, Volume, and Issue information.

Order of Elements

Order of Elements are as follows: title page; Abstract and key words; introduction (no heading); Materials and Methods; Results; Discussion (or Results and Discussion); Acknowledgments; References Cited; footnotes; tables; figure legends; and figures. The introduction should clearly state the basis of your study along with the background of the problem and a statement of purpose. The Materials and Methods section should include a clear and concise description of the study design, experimental execution, materials, and method of statistical analysis. Results should be clearly differentiated from the interpretation of your findings in the Results section or within the Results and Discussion. Cite tables and figures in numerical order as they should appear in the text. Include suggestions for direction of future studies, if appropriate.

Title Page The title page should include the name, complete address, phone number, fax number, and e-mail address of corresponding author.

Include a running head of <65 characters, including author names. *Example:* Smith and Jones: Biological Control of *C. capitata* (no period). For more than two authors, use the senior author's name followed by et al. *Example:* Smith et al.: Biological Control of *C. capitata* (no period).

Include the section of the journal.

The title should be concise and informative. Include either the ESA approved common name of the subject or its scientific name, but not both. Common names used in the title must be listed in the ESA Common Names of Insects & Related Organisms. Do not include authors of scientific names in the title. Do not capitalize the following words in the title or subheadings: a, an, and, as, at, be, by, for, in, of, on, per, to, the. Insert (Order: Family) immediately after the name of the organism.

Affiliation line includes a complete address. If appropriate, designate current addresses for all authors by numbered footnotes (superscripted numbers) placed at the bottom of the title page. *Example:*

1Department of Entomology, University of Colorado, 345 East 7th Street, Denver, CO 78095.

Include all authors' names below the title. Footnote numbers are placed outside commas in multi-authored articles.

Abstract On a separate page, provide an abstract of fewer than 250 words. Give scientific name and authority at first mention of the subject organism. Do not cite references, figures, tables, probability levels, or results. Refer to results only in the general sense.

Keywords Place three to five keywords, separated by commas, on a line below the abstract. Use only singular words/nouns. Spell out scientific names (e.g., spell out *Aedes albopictus* instead of *Ae. albopictus*). Do not combine different subjects as one key word (e.g., "pesticides and grass," should be two separate keywords, "pesticide, grass." Do not use scientific names and common name at the same time as one key word [e.g., use "coffee, *Coffea Arabica*" (as 2 key words) instead of coffee (*Coffea Arabica*). Optional foreign language abstract: All articles will have an English abstract. However, to encourage international communication, authors may include a second abstract in a language other than English. (Spanish, French, German, Russian, Portuguese, Chinese, or Japanese are accepted.) It is the author's responsibility to provide an accurate, and grammatically correct non-English version. Do not repeat the keywords.

Heading Levels *First-level headings* are centered and boldfaced on their own line. Initial capital letters. Used to divide the manuscript into major sections (e.g., Materials and Methods, Results).

Second-level headings are flush left, boldface, and are also on their own line with initial capital letters. Second-level headings are rarely used except in taxonomic articles where multiple levels of headings may be necessary.)

Third-level headings are boldfaced, paragraph indented, have initial capital letters, and are followed by a period. Third-level headings are used to divide first-level sections into smaller sections.

Fourth-level headings are italicized (but not boldfaced), paragraph indented, have initial capital letters, follow immediately after a third-level heading or start a new paragraph, and are followed by a period. Fourth-level headings are used to divide third-level sections into smaller sections. **In-Text Citations**

Single Author (Smith 1993)

Two Authors (Smith and Jones 1993)

Multiple Citations (Smith 1996, Smith et al. 1997, Jones 1998)

Multiple Publications by Same Author(s) (Smith et al. 1995a, 1995b, 1997; Jones 1996)

Personal Communications (Jones 1988; L. J. Smith, personal communication). Obtain and forward (at submission) a letter of permission to use citations to personal communications (from those other than authors).

Unpublished Data

(L.J.S., unpublished data) for one author or (unpublished data) for all authors. Obtain and forward (at submission) a letter of permission to use citations to unpublished data (from those other than authors).

In Press (Smith 1997) for in press, cite projected year of publication.

Software (PROC GLM, SAS Institute 1999) for software user's manual.

Manufacturers In parentheses, provide manufacturer's name and location (city, state) and model number of relevant materials and equipment. Example: (Model 3000, LICOR, Lincoln, NE). Use generic names when possible (e.g., self-sealing plastic bags).

Reporting Requirements for Statistical Tests

All data reported (except for descriptive biology) must be subjected to statistical analysis. Descriptive biology should include information such as sample sizes and number of replications. Authors are responsible for the statistical method selected and for the accuracy of their data. Authors should be able to justify the use of a particular

statistical test when requested by an editor. Results of statistical tests may be presented in the text, in tables, and in figures. Statistical methods should be described in Materials and Methods with appropriate references. Experimental designs should also be described fully in Materials and Methods. Descriptions should include information such as sample sizes and number of replications. See specific section in this style guide for suggestions on formatting statistical results. Only *t*-tests and analyses of variance require no citation. Cite the computer program user's manual in the References Cited. **Probit/logit** When presenting results of probit/logit analysis, these columns should be included in tables (in this order, left to right); *n*, slope + SE, LD (or LC) (95% CL), and chi-square. When a ratio of one LD versus another is given, it should be given with its 95% CI.

Statistical tests to show what model best fits data intended to estimate the 99.9986% level of effectiveness should be presented to justify use of any model, including the probit model. Thus, we do not recommend use of the Probit 9 without tests to show that the probit model fits the data.

Analysis of Variance or *t*-test

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

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

Variance and sample size Include an estimate of the variance and sample size for each mean regardless of the method chosen for unplanned multiple comparisons. The use of Duncan's Multiple Range Test (DMRT) is not acceptable as a *mean separation test* as it is no longer commonly accepted as a method for *post hoc* mean separation analysis.

Model Analysis

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

Dates Use Roman numerals I through XII to designate month of collection. Use Arabic numerals 00 through 99 to designate collection years in the 20th century. Do not

abbreviate other years, including the 21st century. Express data in this format: daymonth (use a Roman numeral)-year. Example: 2-V-97.

Voucher Specimens

Voucher specimens of arthropods serve as future reference for published names used in scientific publications. Although the deposition of voucher specimens is not required as a condition for publication, authors are encouraged to deposit specimens in an established, permanent collection and to note in the published article that the expected deposition has been made and its location. Authors should contact the curator of a voucher repository before deposition concerning the procedures required for curation to ensure that the collection will accept the voucher materials. The designation and proper labeling of voucher specimens is the author's responsibility. When available, at least three specimens should be deposited. Each specimen should have the following information provided at the time of deposition:

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

Acknowledgments Place the acknowledgments after the text. Organize acknowledgments in paragraph form in the following order: persons (omit all professional titles and degrees), groups, granting institutions, grant numbers, and serial publication number.

REFERENCES CITED Cite only those articles published or formally accepted for publication (in press). Include all references mentioned in text. Include enough information to allow reader to obtain cited material (e.g., book and proceedings citations must include name and location [city and state or country] of publisher).

Abbreviate journal titles according to the most recent issue of BIOSIS Serial Sources. For non-English titled journals that are cited in the references, the title of the journal should be spelled out, and not abbreviated. Systematics-related articles may specify that all serial titles be spelled out for final publication. Citations and References should not be numbered.

Alphabetical order (chronological for one author or more than two authors, and alphabetical order [by surname of second author] for two authors)

Journal Articles

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

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

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

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

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

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

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

In Press

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

Books

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

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

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

Article/Chapter in Book

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

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

No Author Given

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

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

Patents

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

Proceedings

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

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

Theses/Dissertations

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

Software

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

Online Citations

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

Tables Place tables after the References Cited section. Double-space and number all tables. Boldface table title. Do not repeat data already presented in text. If a table continues on more than one page, repeat column headings on subsequent page(s). **Title** Title should be short and descriptive. Boldface table number and title only. Include "means + SEM" in title if applicable. Do not footnote title; use the unlettered first footnote to include general information necessary to understand the title (e.g., define terms, abbreviations, and statistical tests).

Lines Use horizontal lines to separate title from column headings, column headings from data field, and data field from footnotes. Do not use vertical lines to separate columns. All columns must have headings.

Abbreviations

Use approved abbreviations. Use abbreviations already defined in the text and define others in the general footnote. Use the following abbreviations in the body or column headings of tables only: amt (amount), avg (average), concn (concentration), diam (diameter), exp (experiment), ht (height), max (maximum), min. (minimum), no. (number), prepn (preparation), temp (temperature), vs (versus), vol (volume), wt (weight). Use the following abbreviations for months: Jan., Feb., Mar., April, May, June, July, Aug., Sept., Oct., Nov., and Dec.

Operational Signs Repeat operational signs throughout data field. Insert a space on either side of sign (1.42 ± 1.36).

Spacing Leave no space between lowercase letters and their preceding values (e.g., 731.2ab).

Footnotes to Tables

Use footnotes to define or clarify column headings or specific datum within the data field. Do not footnote the title; use the unlettered first footnote to include general information necessary to understand the table (e.g., define terms, abbreviations, and statistical tests). The use of asterisks is reserved for statistical significance only.

Example: Means within a column followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$; Student *t*-test [Abbott 1925]). *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; NS, not significant).

Use lowercase italicized superscripted letters to indicate footnotes. Footnote letters should appear in the table in consecutive order, from left to right across the table then down the page.

Figures For review purposes, it is acceptable to include figures, whether in black and white or color, as part of the manuscript file, with each figure on a separate page. Figures should be inserted in the manuscript file in one of the following formats:

- ☐ Tagged Image File Format (.tif)* (please check settings when exporting to TIFF from the original application).
- ☐ Encapsulated PostScript (.eps)*
- ☐ Rich Text Format (.rtf)
- ☐ Editable Microsoft Word (.doc/.docx) (image files embedded into Word are often not good quality)
- ☐ Editable Microsoft PowerPoint (.ppt/.pptx) (image files embedded into PowerPoint are often not good quality).
- ☐ Microsoft Excel (.xls/.xlsx)
- ☐ Editable Portable Document Format (PDF)
- ☐ Postscript (.ps)
- ☐ Photoshop (.psd)
- ☐ Adobe Illustrator (.ai)

- Graphics Interchange Format (.gif)
- Portable Network Graphics (.png)

GIF formats, such as from websites, are not acceptable and produce poor quality printouts because of low resolution, even for peer review purposes. Charts from Excel and SigmaPlot should not be inserted unless they are in one of the above formats.

Maximum figure sizes are as follows:

- Maximum height: 240 mm (9 inches)
- Maximum width (2-column figure): 171 mm (6 inches)
- Maximum width (1-column figure): 82 mm (3 inches)

When authors are asked to submit revisions, they are also asked to provide all figures as separate, high-quality image files to allow papers to move quickly and efficiently into production upon acceptance.

For more information on preparing figures, see OUP's Author Resource Centre on figures.

Abbreviations and Symbols

Abbreviations and symbols in figures should match those in the text or be defined in legends.

Figure Captions Type all captions double-spaced on a separate page. All captions should be in paragraph form as shown by the example below.

Fig. 1. Relationship between percentage of defoliation of oak trees and gypsy moth population density. (A) Defoliation and egg mass density. (B) Defoliation of egg density. Letter locants on figures composed of more than one element should match those in the text (either upper- or lowercase). Do not use equal signs to define abbreviations; use commas (e.g., Ap, barometric pressure).

SUPPLEMENTAL MATERIAL

Supplemental Material may be submitted in the form of one or more (8 maximum) files to accompany the online version of an article. Such material often consists of large tables, data sets, or videos which normally are not possible or convenient to present in print media. Supplemental Material represents substantive information to be posted on the ESA journal website that enhances and enriches the information presented in the main body of a paper. However, the paper must stand on its own without the need for the

reader to access the supplemental information to understand and judge the merits of the paper. Any files containing Supplemental Material must be provided at the time of manuscript submission, and will be distributed to reviewers as part of the normal peerreview process. Authors should alert the editor to the presence of Supplementary Material in their cover letter at submission. Once a paper is published, the content of accompanying Supplemental Material files cannot be altered. Although the content of any submitted Supplementary Material is subject to normal peer-review and any changes required by the editor, no copy editing will be performed by the journal's production staff. Therefore, the authors are responsible for suitable format and final appearance of Supplemental Material after acceptance of the paper.

Supplemental Material should be referenced in the body of the main paper (e.g., Supp. Table S1; Supp. Video S1), where a link will take the online reader to the file. Each supplemental file must be labeled with an appropriate title and prefaced by a short (50 words maximum) summary description of the contents. Within each file, any tables, figures, videos, or other material must be accompanied by an appropriate caption. Citations for any literature referenced within a Supplemental Material file should be listed in a References Cited section at the end of the file, even when a citation is duplicated in the main body of the paper. Videos should be brief (< 5 min) and kept to a reasonable size to facilitate downloading by readers.