

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**DNA barcoding e diversidade de ácaros predadores da família  
Laelapidae (Acari: Mesostigmata) nos diferentes biomas brasileiros**

**Rosely Souza Pereira**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências. Área de concentração:  
Entomologia

**Piracicaba  
2021**

**Rosely Souza Pereira**  
**Licenciada em Ciências Biológicas**

**DNA barcoding e diversidade de ácaros predadores da família Laelapidae  
(Acari: Mesostigmata) nos diferentes biomas brasileiros**  
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:  
Prof. Dr. **ALBERTO SOARES CORRÊA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de  
Mestra em Ciências. Área de concentração:  
Entomologia

**Piracicaba**  
**2021**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Pereira, Rosely Souza

Caracterização molecular e morfológica de ácaros predadores da família Laelapidae (Acari: Mesostigmata) nos diferentes biomas brasileiros / Rosely Souza Pereira. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2021.

65 p.

Dissertação (Mestrado) - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Ácaros predadores 2. Diversidade 3. Marcadores moleculares 4. COI 5. NUMTs I. Título

## **DEDICATÓRIA**

### **Aos meus pais**

Otávio Souza Lopes e Lindalva Pereira da Silva

### **Ao meu filho**

João Pedro de Souza Vale

### **Ao meu esposo**

Márcio Peixoto Vale

**Por todo amor, suporte e paciência durante esses dois anos.**

## AGRADECIMENTOS

À Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, me concedendo saúde, paz, proteção e me ajudando nas horas mais difíceis.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), e a todos os professores que me auxiliaram durante o curso de pós graduação, pelo apoio necessário para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alberto Soares Corrêa, por acreditar no meu potencial, não desistir de mim e por estar sempre disponível para solução de dúvidas e problemas que surgiram durante o desenvolvimento do projeto.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Gilberto José de Moraes, por apoiar e colaborar com este trabalho. Seus conselhos e sugestões foram cruciais para minha formação.

À Dra. Elisângela Gomes Fidelis por continuar com as portas abertas do laboratório de Entomologia da Embrapa Roraima. Pelo apoio técnico, logístico e emocional que me deu em vários momentos.

À professora Dr. Tatiane Marie Martins Gomes de Castro, da Universidade Estadual de Roraima, campus Rorainópolis, pelo apoio técnico e logístico durante a realização das coletas em Rorainópolis.

Aos meus pais, Otávio Souza Lopes e Lindalva Pereira da Silva por terem me educado e incentivado a estudar. Por entenderem minha ausência e ajudarem a cuidar do meu filho durante esses dois anos.

Ao meu querido e amado esposo Márcio Peixoto Vale, pela atenção, força, incentivo e principalmente por entender minha ausência e cuidar muito bem do nosso pequeno durante esses dois anos.

Ao meu filho, João Pedro de Souza Vale. Por ser a luz da minha vida, pelas palavras de carinho sincero e todos os desenhos que mandava ilustrando a nossa linda família. Pela paciência e por perdoar a minha ausência ao seu lado todo esse tempo.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia Molecular de Artropódes da USP/ESALQ: Cleane da Silva, Cristina Jensen, Daniela H. Maggio, Denise, Felipe Carmesini, Frederico Hickmann, Frederico Nanini, Larissa, Laura Pantoja, Victória Rossetti. Pelo apoio, momentos de descontração e por tornarem meus dias mais alegres e felizes.

Aos amigos do Laboratório de Acarologia da USP/ESALQ: Letícia H. de Azevedo e Vinícius Borges da Silva. Em especial ao Vinícius, por todo apoio na finalização deste trabalho. Por todos os conselhos e momentos bons que me proporcionaram. A companhia de vocês tornou meus dias mais alegres neste local.

Aos meus amigos do Laboratório de Entomologia da Embrapa Roraima: Jaime E. Simon, Jorge Ícaro, Ana Karin, Raylan Marques, Regina Oliveira e Victor Castro. Pelo apoio nas coletas de campo e pelos momentos de descontração e alegria proporcionados em nossos momentos juntos.

Aos “viados da minha vida”: Andressa Sampaio, Bruna Rufino, Elizana S. Silva e Regina Oliveira da Silva. Pelo apoio e incentivo durante esses dois anos. Conversar com vocês sempre tornava meus dias mais felizes, por mais triste que eu estivesse.

As minhas amigas Ana Lígia Giraldeli, Alessandra, Bruna Moura e Laís Maroubo do “Gil’s House”, por me acolherem tão bem. Pelo incentivo, força, conselhos, carinhos e muitos momentos alegres que vivemos. Dois anos parece pouco, mas foi muito bom dividir não só uma casa, mas uma vida com vocês.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante meu mestrado.

À Fapesp, projeto Biota Fapesp (2017/12004-1), pela concessão de auxílio financeiro para a realização da dissertação.

À todos que direta e indiretamente ajudaram para que eu pudesse tornar esse sonho realidade, muito obrigada!

## EPÍGRAFE

*É no desprezo dos pequenos deveres que se faz a aprendizagem das grandes faltas.*

Suzanne Necker

## SUMÁRIO

RESUMO .....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
REFERÊNCIAS .....	16
2. DNA BARCODING E DIVERSIDADE DE ÁCAROS EDÁFICOS DA FAMÍLIA LAELAPIDAE (ACARI: MESOSTIGMATA) NOS DIFERENTES BIOMAS BRASILEIROS.....	27
RESUMO .....	27
ABSTRACT.....	27
2.1. INTRODUÇÃO.....	28
2.2. MATERIAL E METÓDOS.....	29
2.2.1. Amostragem.....	29
2.2.2. Extração dos ácaros das amostras de solo .....	31
2.2.3. Triagem das amostras.....	32
2.2.4. Extração de DNA .....	32
2.2.6. Amplificação e sequenciamento do fragmento do gene COI .....	33
2.2.7. Análise de dados.....	34
2.2.7.1 Diversidade Morfológica .....	34
2.2.7.2. Edição e alinhamento das sequencias de COI .....	35
2.2.7.3. Cálculo da distância genética.....	35
2.2.7.4. Análises filogenéticas.....	36
2.2.7.5. Comparação do DNA barcoding de <i>Stratiolaelaps scimitus</i> e <i>S. miles</i> comercializados em diferentes regiões do mundo.....	36
2.3. RESULTADOS.....	37
2.3.1. Diversidade morfológica e diversidade ecológica de espécies de Laelapidae	37
2.3.2 DNA barcoding de Laelapidae de diferentes biomas brasileiros.....	41
2.3.3. DNA barcoding de <i>Stratiolaelaps scimitus</i> e <i>Stratiolaelaps miles</i> comercializados em diferentes continentes do mundo .....	45
2.4 DISCUSSÃO.....	46
2.4.1. Diversidade morfológica e diversidade ecológica de espécies de Laelapidae	46
2.4.2. DNA barcoding de Laelapidae de diferentes biomas brasileiros.....	49



2.4.3. DNA barcoding de <i>Stratiolaelaps scimitus</i> e <i>Stratiolaelaps miles</i> comercializados em diferentes continentes do mundo .....	50
2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
APÊNDICES .....	59

## RESUMO

### **DNA barcoding e diversidade de ácaros predadores da família Laelapidae (Acari: Mesostigmata) nos diferentes biomas brasileiros**

A família Laelapidae reúne um pouco mais que 1300 espécies descritas mundo. No Brasil pouco se conhece sobre a diversidade das espécies pertencentes a essa família. O conhecimento das espécies existentes torna possível a atualização de informações referentes a classificação taxonômica, tendo em vista que se há instabilidade taxonômica na classificação de alguns gêneros deste grupo. Além disso, tal conhecimento se faz necessário para o investimento em estudos de bioprospecção de espécies para utilização em programas de controle biológico. Assim, nosso objetivo foi a coletar ácaros da família Laelapidae em diferentes biomas brasileiros e caracterizar morfológicamente e molecularmente (DNA Barcoding) as espécies presentes. Somado a isso, nós caracterizamos o DNA Barcoding de populações comerciais de *Stratiolaelaps scimitus* e *Stratiolaelaps miles* comercializadas no Brasil, França e África do Sul. Assim, coletas de solo e serrapilheira foram realizadas em áreas de cultivos e vegetação natural nos biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa. As amostras foram submetidas ao funil de berlese por sete dias. Os ácaros identificados como laelapídeos foram submetidos a extração não destrutiva de DNA e posteriormente montados em lâmina de microscopia. Ao todo foram encontrados 131 ácaros, dentre adultos e imaturos nos diferentes biomas brasileiros. Os gêneros encontrados foram *Alloparasitus*, *Cosmolaelaps*, *Gaeolaelaps*, *Gymnolaelaps*, *Ololaelaps*, *Oloopticus*, *Pseudoparasitus* e *Stratiolaelaps*. O gênero *Gaeolaelaps* foi o mais comum, sendo encontrado em todos os biomas relatados neste estudo. Fomos capazes de desenvolver um processo de extração de DNA não destrutivo para ácaros e produzimos DNA barcoding para 9 espécies de ácaros da família Laelapidae. Neste estudo é reportado a presença de NUMTs (pseudogenes) de COI para duas espécies diferentes de *Gaeolaelaps*. As espécies de *Stratiolaelaps* oriundas do Brasil (áreas nativas e comercializadas) e oriundas de empresas da África do Sul e França são uma *única espécie, com alta indicação de que seja S. scimitus*.

Palavras-chave: Ácaros predadores, Diversidade, Marcadores moleculares, COI, NUMTs

## ABSTRACT

### **DNA barcoding and diversity of predatory mites of the Laelapidae family (Acari: Mesostigmata) in different Brazilian biomes**

The Laelapidae family gathers approximately 1300 species described worldwide. In Brazil, little is known about the diversity of species belonging to this family. The knowledge of existing species makes it possible to update taxonomic classification information, considering that there is taxonomic instability in some genera classification in this group. Such knowledge is also necessary for investment in studies of species bioprospecting for use in biological control programs. Thus, our objective was to collect mites of the Laelapidae family in different Brazilian biomes and characterize them morphologically and molecularly (DNA Barcoding). Also, we characterize the DNA Barcoding of commercial populations of *Stratiolaelaps scimitus* and *Stratiolaelaps miles* sold in Brazil, France, and South Africa. Thus, soil and litter collections were carried out in cultivation and natural vegetation in the Amazon, Cerrado biomes, Atlantic Forest, Pantanal, and Pampa. The samples were submitted to the Berlese funnel for seven days. The mites identified as laelapids were subjected to non-destructive DNA extraction and subsequently mounted on a microscopic slide. Altogether 131 mites were found among adults and immatures in different Brazilian biomes. The genera found were *Alloparasitus*, *Cosmolaelaps*, *Gaeolaelaps*, *Gymnolaelaps*, *Ololaelaps*, *Oloopticus*, *Pseudoparasitus*, and *Stratiolaelaps*. The genus *Gaeolaelaps* was the most common, being found in all biomes reported in this study. We developed a non-destructive DNA extraction process for mites and produced DNA barcoding for nine species of mites in the Laelapidae family. In this study, the COI NUMTs (pseudogenes) presence is reported for two different species of *Gaeolaelaps*. *Stratiolaelaps* species from Brazil (native and commercialized areas) and companies from South Africa and France are a single species, with a high indication that it is *S. scimitus*.

Keywords: Predatory mites, Diversity, Molecular markers, COI, NUMTs

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Ocupando quase metade da América do Sul, o Brasil está entre os países que apresentam maior diversidade de fauna e flora do mundo distribuídas nos biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Ribeiro, 2011), além das áreas marinha e costeira. Estes biomas abrigam uma infinidade de espécies vegetais e animais nas suas diferentes formas de solo e vegetação (MMA, 2008). Entretanto, sua grande dimensão, dificulta o conhecimento de toda sua biodiversidade (MMA, 2008).

Na maioria dos estudos de diversidade e abundância de organismos, especialmente quando se trata de ambientes de vegetação natural, um dos grupos mais encontrados são os ácaros, principalmente no ambiente edáfico. Estes organismos podem representar cerca de 50% das espécies presentes no solo de ambientes naturais (Adis, 1988; Plowman, 1979; Steffen & Antonioli, 2007). Em sua maioria, podem ser encontrados em ambientes terrestres, participando da decomposição da matéria orgânica e podendo auxiliar na determinação da sustentabilidade dos agroecossistemas, sendo utilizados como bioindicadores da qualidade do solo destas áreas (Behan-Pelletier, 1999; Fagundes, 1999; Silva et al., 2007).

Comumente, os ácaros edáficos mais abundantes em áreas naturais são da subordem Oribatida, ordem Sarcoptiformes (Krantz & Walter, 2009). Estes organismos estão associados principalmente a decomposição de matéria orgânica (Fagundes, 1999). Além desses organismos ácaros da coorte Gamasina, ordem Mesostigmata, geralmente são o segundo grupo mais abundante no solo (Krantz & Walter, 2009).

Os Mesostigmata são divididos em três subordens, Sejida, Trigynaspida e Monogynaspida. A subordem Monogynaspida é composta de quatro coortes, Microgyniina, Heatherellina, Uropodina e Gamasina (Lindquist et al., 2009). Dentro de Gamasina estão as superfamílias Arctacaroidea, Ascoidea, Dermanyssoidea, Eviphidoidea, Parasitoidea, Phytoseioidea, Rhodacaroidea, Veigaiioidea e Zerconoidea (Lindquist et al., 2009). A coorte Gamasina é constituída principalmente por ácaros predadores (Moraes & Flechtmann, 2008), sendo algumas espécies importantes no controle biológico aplicado de pragas de solo ou que vivem uma parte da vida no solo (Gerson et al., 2003).

Em Gamasina as famílias mais frequentes no solo são: Ascidae (*Sensu Lato*), Laelapidae, Ologamasidae e Rhodacaridae, seguido de Macrochelidae e Parasitidae que são encontrados em sua maioria principalmente em habitats efêmeros, especialmente em certos estágios de decomposição de fezes de animais (Moraes & Flechtmann, 2008; Krantz & Walter, 2009). Dentre as famílias encontradas no solo Macrochelidae e Laelapidae destacam-se por terem espécies com alto potencial para o controle biológico de pragas, inclusive, tendo em Laelapidae as espécies *Gaeolaelaps aculeifer*, *S. miles* e *S. scimitus* comercializadas para o controle biológico de pragas encontradas em casa de vegetação (Barbosa et al., 2017).

Laelapidae é uma das 16 famílias de Dermanyssoidea, uma superfamília que inclui ácaros com formas parasitas e de vida livre (Lindquist et al., 2009). Descrita a 129 anos atrás (Berlese, 1892) esta família inclui cerca de 1.300 espécies classificadas em pouco mais de 90 gêneros (Beaulieu et al., 2011). Recentemente, novas espécies foram descritas nas Américas e na Ásia. Laelapídeos de vida livre podem ser encontrados em microhabitats edáficos alimentando-se de pequenos insetos, outros ácaros, nematoides, anelídeos e colêmbolas. Algumas espécies tem demonstrado sobreviver de 20 a 150 dias sem alimento, desde que em umidades altas (Ignatowicz, 1974; Wright & Chambers, 1994; Moreira et al., 2015).

Observa-se atualmente maior difusão do uso de ácaros predadores, com várias espécies disponíveis comercialmente e diversas pesquisas em andamento para identificação de novas espécies de ácaros adequadas ao controle de pragas na agricultura. Estudos demonstram o alto potencial de algumas espécies para utilização no controle biológico de pragas em estufas, sendo que espécies de *Gaeolaelaps* e *Stratiolaelaps* estão em produção comercial no Brasil e na Europa (Walter & Campbell, 2003), tendo sua eficiência demonstrada em vários estudos (Chambers et al., 1993; Gillespie & Quiring, 1990; Wright & Chambers, 1994). Estudos da predação desses ácaros sobre larvas de moscas Sciaridae tiveram início com o trabalho de Chambers et al (1993), que demonstraram a eficácia de *S. miles* sobre a espécie *Bradysia paupera* (Diptera: Sciaridae). A partir da primeira década de 2000, intensificaram-se no Brasil os estudos biológicos e ecológicos dos laelapídeos, visando o controle biológico da *Bradysia matogrossensis* (Diptera: Sciaridae) (Cabrera et al., 2005; Freire et al., 2007; Castilho et al., 2009).

Desde o início da utilização de ácaros predadores da família Laelapidae, duas espécies do gênero *Stratiolaelaps* se destacaram: *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley)

e *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Gerson et al., 2003). Contudo, a partir de estudos realizados com populações comerciais na Europa sob o nome de *S. miles*, constatou-se que na verdade referem-se a *S. scimitus* (Cabrera et al., 2005). Walter & Campbell (2003) a partir da utilização de ferramentas moleculares, propuseram que *S. scimitus* e *S. miles* correspondem, na verdade, a um conjunto de espécies crípticas.

Estudos sobre a diversidade de espécies dessa família são incipientes e os trabalhos publicados sobre diversidade são generalizados, ou seja, abrangem todas as famílias de Mesostigmata (Duarte, 2013; Santos, 2013; Santos et al., 2013; Franklin et al., 2006; Britto et al., 2017; Duarte et al., 2016; Mineiro & Moraes, 2001; Silva et al., 2004; Castilho & Moraes, 2010; Castilho et al., 2010, 2012b; Britto et al., 2012b; Moreira et al., 2014; Santos et al., 2015; Santos, 2017; Azevedo et al., 2017; Azevedo, 2017a).

Os estudos taxonômicos clássicos da família Laelapidae são baseados em observações das diferenças morfológicas entre os organismos (Navajas & Fenton, 2001) onde são observados os caracteres morfológicos comuns para diferenciar algumas fêmeas dessa família: placa genital em formato de frasco (gota) bem separada de uma placa anal triangular, ou a placa genital larga se apoiando sobre a placa anal; escudo dorsal esclerotizado, não dividido, com mais de 20 pares de setas, normalmente de 37-39 pares, frequentemente incluindo setas extras não pareadas ou pareadas em relação ao modelo apresentado por Lindquist e Evans (1965); placa peritremal não fundida com a placa exopodal; tibia I usualmente com duas setas ventrais, incluindo *av*<sub>2</sub>; genu IV usualmente com duas setas posterolaterais, incluindo *p*<sub>2</sub>; subcapítulo com malas internas usualmente bem desenvolvidas, com margens laterais fimbriadas e tão longas quanto os cornículos (Lindquist et al., 2009).

Para a identificação dos gêneros de Laelapidae de vida livre e associados a artropódes, são utilizadas em sua maioria chaves e publicações que relatam espécies do Brasil, contudo em alguns gêneros são utilizadas publicações principalmente de países da América do Sul e América do Norte. Dowling & O'Connor (2010) sugerem a necessidade de uma revisão completa da família Laelapidae com base em dados moleculares, devido a falta de suporte para a existência de uma classificação a nível de subfamília, como sugerido por Casanueva (1993).

A classificação taxonômica de Laelapidae é instável como resultado da contínua confusão sobre sua classificação, sendo abordado em vários estudos (Berlese, 1903; Vitzthum, 1941; Tipton, 1960; Karg, 1965, 1979; Evans & Till, 1966,

1979; Casanueva, 1993; Dowling & O'Connor, 2010). Radovsky & Gettinger (1999) e Shaw (2012) comentaram a dificuldade de colocar gêneros em subfamílias apropriadas. Esta compreensão incompleta da família é o resultado de uma carência de estudos sistemáticos abrangentes, bem como o grande número de espécies não descritas de todo o mundo (Evans & Till, 1966). Esforços abrangentes para resolver a taxonomia dos gêneros de Laelapidae incluem revisões dos gêneros *Gaeolaelaps* por Beaulieu (2009), *Hypoaspis* e *Coleolaelaps* por Joharchi & Halliday (2011), *Gymnolaelaps* e *Pseudoparasitus* por Joharchi et al. (2011), *Laelaspis* por Joharchi et al. (2012), *Cosmolaelaps* por Moreira et al., (2014) e *Ololaelaps* por Beaulieu et al., (2019).

Atualmente a tendência é que os estudos taxonômicos em acarologia evoluam para uma taxonomia integrativa que incorpora uma maior variedade de dados, incluindo moleculares, ecológicos, geográficos, comportamentais e fisiológicos dos indivíduos de diferentes espécies (Seberg et al., 2003; Dayrat, 2005; DeSalle et al., 2005; Rubinnof, 2006; Fonseca et al., 2008). Segundo Niogret et al. (2007) os caracteres morfológicos muitas vezes são inconspícuos e o uso de marcadores moleculares podem auxiliar no esclarecimento de dúvidas na identificação de determinadas espécies.

Estudos moleculares relacionados aos Gamasina restringem-se a alguns grupos de Phytoseiidae (Noronha et al., 2003; Hinomoto et al., 2010; Tixier et al., 2011; Sourassou et al., 2012). Sourassou et al., (2015) conduziram um estudo filogenético com vários táxons de Mesostigmata inferindo que é necessário reconsiderar as estruturas morfológicas de separação dos grupos Ascoidea, Phytoseioidea e Rhodacaroidea. Em Laelapidae poucos estudos estão associados a classificação taxonômica da família.

Estudos genéticos se fazem úteis, exigindo sempre o cuidado na escolha de uma região gênica e marcadores adequados (Bock, 2010). Há que se ter cautela para não escolher uma região conservada demais ou muito variável, que pode conflitar com aspectos morfológicos ou superestimar a quantidade de espécies (Hoef-Emden, 2007; RINDI et al., 2009). A recente popularização de técnicas moleculares e de sequenciamento levou à proposta da criação de um código de barras universal utilizando sequências de DNA denominada DNA Barcoding.

O DNA Barcoding é uma técnica que utiliza o sequenciamento de uma região curta do genoma de um organismo para identificá-lo como pertencente a uma espécie

particular, com o objetivo de contribuir para uma ampla gama de estudos nos quais a identificação taxonômica tradicional não é prática (Hebert & Gregory, 2005). A região mais comumente utilizada para animais, que incluem insetos e ácaros, é um fragmento inicial de 658 pb do gene codificador da proteína Citocromo c Oxidase subunidade I (COI), do DNA mitocondrial. O COI é um gene que pode ser amplificado em qualquer estágio de vida dos animais e, por ser um gene mitocondrial, é vantajoso por possuir evolução rápida, ausência de introns, herança haplóide e exposição limitada para recombinação (Hebert et al., 2003). Atualmente a plataforma de dados do BOLD (Barcode of Life Data System) possui registros relacionados a classificação taxonômica e caracterização molecular do gene COI de várias espécies. Esta plataforma foi desenvolvida pelo Center for Biodiversity Genomics no Canadá. É uma plataforma de armazenamento e análise de sequências de DNA.

Para ácaros Mesostigmata são encontrados 18.480 registros de sequências de COI. Destes registros, 3.705 possuem nomes de espécies, representando apenas 265 espécies com dados moleculares disponíveis. Em Laelapidae esses dados são ainda mais reduzidos. São encontrados 1.341 sequências, destas, 617 possuem nomes de espécies, representando apenas 22 espécies. Estes dados estão ligados a espécimes coletados em 13 países. No Brasil, apenas uma sequência é registrada, dada a diversidade de espécies que são encontradas e descritas anualmente, isso demonstra a grande necessidade de investimento nessa área.

Segundo Navajas & Fenton (2000) estudos moleculares utilizando o mtDNA são utilizados principalmente para determinação de relações filogenéticas, identificação de espécies e análise de estruturas populacionais e genéticas. No mtDNA há regiões que divergem rapidamente, enquanto outras regiões são altamente conservadas, podendo ser utilizadas em diferentes níveis taxonômicos. A região COI (Citocromo c Oxidase Subunidade I) é muito variável, representando uma ótima ferramenta para os estudos evolutivos, portanto tem sido utilizada como ferramenta de identificação molecular e no entendimento da estrutura de populações, fluxo gênico, biogeografia e relações filogenéticas para os níveis taxonômicos de gênero e espécie (Avice et al., 1987; Hebert et al., 2003). Esse gene já é amplamente utilizado para caracterização de populações e espécies em diferentes ordens de insetos (Corrêa et al., 2013; 2017; Leite et al., 2014; Soares et al., 2018; Hickmann et al., 2019; Shimbori et al., 2020) mas sua utilização é incipiente em ácaros devido a grande



dificuldade de amplificação e sequenciamento desse gene quando comparado a outras regiões do DNA nuclear como a região dos genes ribossomais 28S, 18S e ITS.

Sequências de genes relacionados a família Laelapidae podem ser encontrados em banco de dados especializados, no entanto para os dois gêneros já comercializados ainda há poucos trabalhos publicados. Conhecer a relação filogenética entre as espécies de laelapídeos mais frequentes no Brasil é extremamente importante, principalmente para o avanço científico, pois atua como subsídio para futuros trabalhos, principalmente dentro da área de controle biológico de pragas. A identificação molecular desses organismos integrada a identificação morfológica e outras informações, inclusive biológicas, possibilita a identificação correta e a compreensão das relações que ocorrem entre as espécies de Laelapidae.

Assim, o objetivo geral com este trabalho foi estudar a diversidade e abundância de espécies de ácaros predadores da família Laelapidae nos diferentes biomas brasileiros a partir de uma abordagem integrativa de ferramentas morfológicas e moleculares.

## REFERÊNCIAS

- ADIS, J. On the abundance and density of terrestrial arthropods in Central Amazonian dryland forests. **Journal of Tropical Ecology**, v. 4, n. 1, p. 19-24, 1988.
- ADIS, J. Taxonomical classification and biodiversity. In: **Amazonian Arachnida and Myriapoda: Identification keys to all classes, orders, families, some genera, and lists of known terrestrial species**. Pensoft, p. 13-15, 2002.
- ALOYSÉIA, C.S.; NORONHA, A.M.; GILBERTO J.M.; LUIZ L.C. Molecular characterization of mite populations of *Euseius citrifolius* Denmark & Muma and *Euseius concordis* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) using sequences of the ITS1 and ITS2 regions. **Neotropical entomology**, v. 32, n. 4, p. 591-596, 2003.
- AVISE, J.C.; ARNOLD, J.; BALL, R.M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J.E.; SAUNDERS, N.C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual review of ecology and systematics**, v. 18, n. 1, p. 489-522, 1987.

- AZEVEDO, L.H.; EMBERSON, R.M.; ESTECA, F.C.N.; MORAES, G.J. Macrochelid mites (Mesostigmata: Macrochelidae) as biological control agents. In: CARILLO, D.; MORAES, G.J.; PEÑA, J.E. (Eds.). **Prospects for Biological Control of Plant Feeding Mites and other Harmful Organisms**. Springer, p.103–132, 2015.
- AZEVEDO, L.H.; CASTILHO, R.C.; BERTO, M.M.; MORAES, G.J. Macrochelid mites (Mesostigmata: Macrochelidae) from São Paulo state, Brazil, with description of a new species of *Macrocheles*. **Zootaxa**, 4269, 413–426, 2017.
- AZEVEDO, L.H. **Taxonomic studies of Macrochelidae mites (Acari: Mesostigmata) and their potential use to control *Stomoxys calcitrans* and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae)**. Tese (Doutorado em Ciências – Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 276 p., 2017b.
- BARBOSA, M.F.C.; DEMITE, P.R., MORAES, G.J.; POLETTI, M. **Controle biológico com ácaros predadores**. Promip, 1ª edição, p.23-25, 2017
- BEAULIEU, F.; DOWLING, A.P.G.; KLOMPEN, H.; MORAES, G.J.; WALTER, D.E. Superorder Parasitiformes Reuter, 1909. In: Zhang, Z.-Q.(Ed.) Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. **Zootaxa**, v. 3148, n. 1, p. 123-128, 2011.
- BEAULIEU, F. QUINTERO-GUTIÉRREZ, E.J., SANDMANN, D., KLARNER, B., WIDYASTUTI, R., CÓMBITA-HEREDIA, O.; SCHEU, S. Review of the mite genus *Oloaelaps* (Acari, Laelapidae) and redescription of *O. formidabilis* Berlese. **ZooKeys**, v. 853, p. 1, 2019.
- BEHAN-PELLETIER, V.M. Oribatid mite biodiversity in agroecosystems: role for bioindication. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 74, n. 3, p. 411–423, 1999.
- BERLESE, A. **Diagnosi di alcune nuove specie di Acari italiani mirmecofili e liberi**. Zoologischer Anzeiger, 27, p.12–28, 1903.
- BERLESE, A. **Acari myriopoda et scorpiones, hucusque in Italia reperta: Ordo mesostigmata (Gamasidae)**. Sumptibus auctoris, 1892.
- BEAULIEU, F. Review of the mite genus *Gaeolaelaps* Evans & Till (Acari: Laelapidae), and description of a new species from North America, *G. gillespiei* n. sp. **Zootaxa**, v. 2158, p. 33-49, 2009.

- BEAULIEU, F. QUINTERO-GUTIÉRREZ, E.J., SANDMANN, D., KLARNER, B., WIDYASTUTI, R., CÓMBITA-HEREDIA, O.; SCHEU, S. Review of the mite genus *Ololaelaps* (Acari, Laelapidae) and redescription of *O. formidabilis* Berlese. **ZooKeys**, v. 853, p. 1, 2019.
- BOCK, C. **Genetic diversity and polyphyletic origin of the Dictyosphaerium morphotype**. 2010. 48 f. Tese (Doktors der Naturwissenschaften)- Freie Universität Berlin, Germany, 2010.
- BRITTO, E.P.J.; GAGO, E.; MORAES, G.J. How promising is *Lasioseius floridensis* as a control agent of *Polyphagotarsonemus latus*? **Experimental and Applied Acarology**, 56, 221–231, 2012a.
- BRITTO, E.P.J.; BARRETO, M.R.; MORAES, G.J. Description of the new species of *Asca heyden* (Acari: Ascidae), from Mato Grosso, northwestern Brazil. **International Journal of Acarology**, 43, 286–290, 2017.
- CASANUEVA, M.E. Phylogenetic studies of the free-living and arthropod associated Laelapidae (Acari: Mesostigmata). **Gayana Zool.**, v. 57, p. 21-46, 1993.
- CASTILHO, R.C.; MORAES, G.J.; SILVA, E.S.; SILVA, L.O. Predation potential and biology of *Protogamasellopsis posnaniensis* Wisniewski & Hirschmann (Acari: Rhodacaridae). **Biological control**, v. 48, p. 164-67, 2009b.
- CASTILHO, R.C.; MORAES, G.J.; NARITA, J.P.Z. A new species of *Gamasiphis* (Acari: Ologamasidae) from Brazil, with a key to species from the Neotropical Region. **Zootaxa**, n.2452, p.31-43, 2010.
- CASTILHO, R.C.; MORAES, G.J.; HALLIDAY, B. Catalogue of the mite Family Rhodacaridae Oudemans, with notes on the classification of the Rhodacaroidea (Acari: Mesostigmata). **Zootaxa**, v.3471, p.1-69, 2012a.
- CABRERA, A.R.; CLOYD, R.A.; ZABORSKI, E.R. Development and reproduction of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) with fungus gnat larvae (Diptera: Sciaridae), potworms (Oligochaeta: Enchytraeidae) or *Sancassania* aff. *sphaerogaster* (Acari: Acaridae) as the sole food source. **Experimental & Applied acarology**, v.36, p.71-81, 2005.
- CHAMBERS, R.J.; WRIGHT, E.M.; LIND, R.J. Biological control of glasshouse sciarid flies (*Bradysia* spp.) with the predatory mite, *Hypoaspis miles* on cyclamen and poinsettia. **Biocontrol Science and Technology**, v.3, n.3, p. 285-293, 1993.

- CORRÊA, A.S., VINSON, C.C., BRAGA, L.S., GUEDES, R.N.C., & DE OLIVEIRA, L. O. Ancient origin and recent range expansion of the maize weevil *Sitophilus zeamais*, and its genealogical relationship to the rice weevil *S. oryzae*. **Bulletin of Entomological Research**, v.107, n.1, p. 9-20, 2017.
- CORRÊA, A.S., DE OLIVEIRA, L.O., BRAGA, L.S., & GUEDES, R.N.C. Distribution of the related weevil species *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* in Brazil. **Insect Science**, v.20, n.6, p.763-770, 2013.
- DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy. **Biological journal of the Linnean society.**, v.84, p.407-415, 2005.
- DeSALLE, R.; EGAN, M. G.; SIDDALL, M. The unholy: taxonomy. species delimitation and DNA barcoding. **Philosophical transactions of the royal society B: Biological sciences**, v.360, p.1905-1916, 2005.
- DOWLING, A.; O'CONNOR, B.M. Phylogeny of Dermanyssoidea (Acari: Parasitiformes) suggests multiple origins of parasitism. **Acarologia**, v. 50, n. 1, p. 113-129, 2010.
- DUARTE, M.E. **Acarofauna plantícola e edáfica da cultura da cana-deaçúcar e de caboatã, em área de Mata Atlântica no Estado de Alagoas, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 97 p, 2013.
- DUARTE, A.F.; CASTILHO, R.C.; CUNHA, U.S.; MORAES, G.J. New species of *Binodacarus* (Acari: Mesostigmata: Rhodacaridae), with a new characterization of the genus. **Systematic and Applied Acarology**, v. 21, n. 9, p. 1194-1201, 2016.
- DE MORAES, G.; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Holos, 2008.
- EVANS, G. Owen. Estudos sobre os Dermanyssidae britânicos (Acari: Mesostigmata). Parte II Classificação. **Boletim do Museu Britânico (História Natural) Zoology**, v. 14, p. 107-370, 1966.
- EVANS, G.O.; TILL, W.M. Mesostigmatic mites of Britain and Ireland (Chelicerata: Acari-Parasitiformes): An introduction to their external morphology and classification. **The Transactions of the Zoological Society of London**, v. 35, n. 2, p. 139-262, 1979.
- FAGUNDES, E.P. Ácaros do Solo (acari: Oribatida), Abundância e Papel na Decomposição de Littera em Floresta Primária e Numa Área de Policultivo de Madeira da Amazônia. **VIII Jornada de Iniciação Científica do INPA**, 1999.

- FONSECA, G.; DERYCKE, S.; MOES, T. Integrative taxonomy in two free-living nematodes species complexes. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.94, n.4, p. 737-753, 2008.
- FRANKLIN, E.; SANTOS, E.M.R.; ALBUQUERQUE, M.I.C. Diversity and distribution of oribatid mites (Acari: Oribatida) in a lowland rain forest in Peru and in several environments of the Brazilians States of Amazonas, Rondônia, Roraima and Pará. **Brazilian Journal of Biology**, 66, 999–1020, 2006.
- FREIRE, R.A.P.; MORAES, G.J.; SILVA, E.S.; VAZ, A.C.; CASTILHO, R.C. Biological control of *Bradysia matogrossensis* (Diptera: Sciaridae) in mushroom cultivation with predatory mites. **Experimental and Applied Acarology**. v.42, 2007.
- GERSON, U.; OCHOA, R.; SMILEY, R.L. **Mites (Acari) for pest control**. Oxford: Blackwell Science, 2003.
- GILLESPIE, D.R.; QUIRING, D.M.J. Biological control of fungus gnats, *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae), and western flower thrips, *Frankliniella occidentals* (pergande) (Thysanoptera: Thripidae), in greenhouses using a soil-dwelling predatory mite, *Gaeolaelaps* sp. nr. *aculeifer* (Canestrini) (acari: Laelapidae). **The Canadian Entomologist**, v. 122, n. 5, p. 975-983, 1990.
- GLIESSMAN, S.R. Agroecology: ecological processes in sustainable agriculture. In: **Agroecology**: Springer, New York, NY, p. 3-10, 1990.
- HEBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A., Ball, S.L., Dewaard, J.R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003.
- HEBERT, P.D.N; GREGORY, T.R. The promise of DNA barcoding for taxonomy. **Systematic biology**, v. 54, n. 5, p. 852-859, 2005.
- HICKMANN, F., MORAES, T., BIANCHI, F. M., CORREA, A. S., & SCHWERTNER, C. F. Integrating data to redescribe *Euschistus taurulus* Berg (Hemiptera: Pentatomidae). **Zootaxa**, 4688, 2019.
- HINOMOTO, N.; SHINTAKU, T.; AMANO, H. Comparison of genetic diversity among three phytoseiid mite species in Japan by mitochondrial DNA sequence analysis. **Journal of the Acarological Society of Japan**, v.19, p.9–14, 2010.
- HOEF-EMDEN, K. Revision of the genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae) II: incongruences between the classical morphospecies concept and molecular phylogeny in smaller pyrenoid-less cells. **Phycologia**, v.46, n.4, p.402-428, 2007.

- HOY, M. A. Integrated mite management in Washington apple orchards. Agricultural acarology: introduction to integrated mite management. **Taylor and Francis Group**, LLC, Boca Raton, FL, p. 237-242, 2011.
- IGNATOWICZ, S. Observations on the biology and development of *Hypoaspis aculeifer* Canestrini, 1885 (Acarina, Gamasides). **ZP Zool Pol**, 1974.
- JOHARCHI, O.; HALLIDAY, B. New species and new records of mites of the family Laelapidae (Acari: Mesostigmata) associated with Coleoptera in Iran. **Zootaxa**, v. 2883, n. 1, p. 23-38, 2011.
- JOHARCHI, Omid; HALLIDAY, Bruce; SABOORI, Alireza. Three new species of *Laelaspis* Berlese from Iran (Acari: Laelapidae), with a review of the species occurring in the Western Palaearctic Region. **Journal of Natural History**, v. 46, n. 31-32, p. 1999-2018, 2012.
- KARG, W. Larval systematische und phylogenetische Untersuchung. **Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin. Zoologisches Museum und Institut für Spezielle Zoologie (Berlin)**, v. 41, n. 2, p. 193-340, 1965.
- KARG, W. Gattung *Hypoaspis* Canestrini, 1884 (Acarina, Parasitiformes). **Zoologische Jahrbucher**. Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere, 106, 65–104. 1979.
- KRANTZ, G.W. A Manual of Acarology, 509 p. **Oregon State University Book Stores, Corvallis, Oregon**, 1978.
- KRANTZ, G.W., WALTER, D.E. **A Manual of Acarology**. 3. ed. Lubbock – Texas: Texas Tech University Press, 2009.
- LEITE, N.A., ALVES-PEREIRA, A., CORRÊA, A.S., ZUCCHI, M.I., & OMOTO, C. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **PLoS one**, **9**(11), e113286, 2014.
- LINDQUIST, E.E.; EVANS, G.O. Taxonomic concepts in the Ascidae, with a modified setal nomenclature for the idiosoma of the Gamasina (Acarina: Mesostigmata). **The Memoirs of the Entomological Society of Canada**, v. 97, n. S47, p. 5-66, 1965.
- LINDQUIST, E.E.; KRANTZ, G.W.; WALTER, D.E. Order mesostigmata. **A manual of acarology**, v. 3, p. 124-232, 2009.
- LINDQUIST, E. E.; KRANTZ, G. W.; WALTER, D.E. Order Mesostigmata. In: KRANTZ, G.W. e WALTER, D.E. (eds). **A Manual of Acarology**, 3. ed. Lubbock, Texas: Texas Tech University Press, 2009.

- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Áreas Prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios do bioma Amazônia**. Ministério do Meio Ambiente (MMA), Programa Áreas Protegidas da Amazônia (ARPA).v.1. pag. 54-63. 2008.
- MINEIRO, J.L.C.; MORAES, G.J. de. Gamasida (Arachnida: Acari) edáficos de Piracicaba, Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**. v. 30, 2001.
- MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. **Holos**, 2008.
- MOREIRA, G.F.; MORAES, G.J. The potential of free-living laelapid mites (Mesostigmata: Laelapidae) as biological control agents. In: CARILLO, D.; MORAES, G.J.; PEÑA, J.E. (Eds.). **Prospects for Biological Control of Plant Feeding Mites and other Harmful Organisms**. Springer, p.77-102, 2015.
- MOREIRA, G.F.; KLOMPEN, H.; DE MORAES, G.J. Redefinition of *Cosmolaelaps* Berlese (Acari: Laelapidae) and description of five new species from Brazil. **Zootaxa**, v. 3764, n. 3, p. 317-346, 2014.
- NAVAJAS, M.; FENTON, B. The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. **Experimental & applied acarology**, v. 24, p.751-774, 2000.
- NIOGRET, J.; NICOT, A.; DE STORDEUR, E.; BERTRAND, M. Combination of morphological characters and ITS-sequence to characterize a new species of *Macrocheles* (Acari: Macrochelidae). **Zootaxa**, v. 1386, n. 1, p. 19-29, 2007.
- NORONHA, A.; MOTA, A.; MORAES, G.J.; COUTINHO, L.L. Molecular characterization of mite populations of *Euseius citrifolius* Denmark & Muma and *Euseius concordis* (Chant)(Acari: Phytoseiidae) using sequences of the ITS1 and ITS2 regions. **Neotropical entomology**, v.32, n.4, p.591-596, 2003.
- OLIVEIRA, A.R.; MORAES, G.J.; DEMÉTRIO, C.G.E.; NARDO, E.A.E. Efeito do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* sobre Oribatida edáficos (Arachnida: Acari) em um campo de soja. **Boletim de Pesquisa**, v.13, 2001.
- PLOWMAN, K.P. Litter and soil fauna of two Australian subtropical forest. **Journal of Animal Ecology**, v. 4, n. 1, p. 47–104, 1979.
- RADOVSKY, F.J.; GETTINGER, D. Acanthochelinae, new subfamily (Acari: Parasitiformes: Laelapidae), with redescription of *Acanthochela chilensis* Ewing and descriptions of a new genus and species from Argentina. **International Journal of Acarology**, v. 25, n. 2, p. 77-90, 1999.

- RIBEIRO, M.L. Reserva Ecológica do IBGE: biodiversidade terrestre. **IBGE, Rio de Janeiro**, 2011.
- RINDI, F.; LAM D.W; LÓPEZ-BAUTISTA J.M. Phylogenetic relationships and species circumscription in Trentepohlia and Printzina (Trentepohliales, Chlorophyta). **Molecular phylogenetics and evolution**, v.52, n.2, p.329-339, 2009.
- RUBINOFF, D.; CAMERON, S.; WILL, K. A genomic perspective on the shortcomings of mitochondrial DNA for “barcoding” identification. **Journal of Heredity**, v.97, n.6, p.581-94, 2006.
- SANTOS, J.C.; CASTILHO, R.C.; SILVA, E.S.; MORAES, G.J. A new species of *Hydrogamasellus* (Acari: Mesostigmata: Ologamasidae) from Brazil, with a key to the world species of the genus. **Zootaxa**, 3718, 81–88, 2013.
- SANTOS, J.C. **Ácaros (Arthropoda: Acari) edáficos do estado de Alagoas, com ênfase nos Mesostigmata**. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 74 p, 2013.
- SANTOS, J.C.; CASTILHO, R.C.; SILVA, E.S.; MORAES, G.J. Two new species of *Rykellus* (Acari: Mesostigmata: Ologamasidae) from Brazil and a key to the world species of the genus. **Zootaxa**, 3926, 111–121, 2015.
- SANTOS, J.C. **Taxonomia de espécies de Ascidae, Blattisociidae e Melicharidae (Acari: Mesostigmata), ácaros potencialmente úteis para o controle de pragas agrícolas**. Tese (Doutorado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 121 p., 2017.
- SHAW, D.M. Re-evaluation of *Pseudoparasitus* (Gymnolaelaps) *annectans* (Womersley): a new genus and two new species (Acari: Mesostigmata: Laelapidae). **Zootaxa**, v. 3453, p. 25-42, 2012.
- SEBERG, O; HUMPHRIES, C.; KNAPP, S.; STEVENSON, D.; PETERSEN, G.; SCHARFF, N.; ANDERSEN, N. Shotcuts in systematics? A commentary on DNA-based taxonomy. **Trends in Ecology & Evolution**., v.18, n.2, p.63-65, 2003.
- SILVA, E. S. **Ácaros (Arthropoda: Acari) edáficos da Mata Atlântica e Cerrado do Estado de São Paulo, com ênfase na superfamília Rhodacaroidea**. Piracicaba: ESALQ USP, 2002. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo.



- SILVA, J.; CASALINHO, H.; VERONA, L.; SCHWENGBER, J. Avaliação da mesofauna (colêmbolos e ácaros) do solo em agroecossistemas de base familiar no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 539–542, 2007.
- SHAW, D.M. Re-evaluation of *Pseudoparasitus (Gymnolaelaps) annectans* (Womersley): a new genus and two new species (Acari: Mesostigmata: Laelapidae). **Zootaxa**, v. 3453, p. 25-42, 2012.
- SHIMBORI, E.M., WENGRAT, A.P., SAVARIS, M., GALVAO, W.B., NANINI, F., GARCIA, S.S., & CORREA, A.S. Two new species of *Nealiolus* Mason (Hymenoptera, Braconidae, Brachistinae) reared from pest weevils (Coleoptera, Curculionidae). **Zootaxa**, v.4729, n.1, 2020.
- SOARES, P.L., CORDEIRO, E.M., SANTOS, F.N., OMOTO, C., & CORREA, A.S. The reunion of two lineages of the Neotropical brown stink bug on soybean lands in the heart of Brazil. **Scientific Reports**, v.8, n.1, p.1-12, 2018.
- SOURASSOU, N.F.S.; HANNA, R.; ZANNOU, I.; BREEUWER, J.A.J.; MORAES, G.J.; SABELIS, M.W. Morphological, cross-breeding and molecular analysis of geographic populations of coconut-mite associated predatory mites identified as *Neoseiulus baraki*: evidence for cryptic species? **Experimental and Applied Acarology**, v. 57, n. 1, p. 15-36, 2012.
- SOURASSOU, N.F., DE MORAES, G.J., JÚNIOR, I.D., & CORRÊA, A.S. Phylogenetic analysis of Ascidae sensu lato and related groups (Acari: Mesostigmata: Gamasina) based on nuclear ribosomal DNA partial sequences. **Systematic and Applied Acarology**, v.20, n.3, p.225-240, 2015.
- STEFFEN, R.B.; ANTONIOLLI, Z.I.; STEFFEN, G.P.K. Avaliação de substrato para reprodução de colêmbolos nativos em condições de laboratório. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 3, p. 265–269, 2007.
- TIPTON, Vernon J. **The genus Laelaps, with a review of the Laelaptinae and a new subfamily Alphalaelaptinae (Acarina: Laelaptidae)**. Berkeley: University of California Publications in Entomology, v.16, n.6, p.233–356, 1960.
- TIXIER, M. S. Electronic polytomous key to species of the sub-genus *Typhlodromus* (*Typhlodromus*) Scheuten (Acari: Phytoseiidae) of the world. In: [Typhlodromuskeypresentation.html](#), 2012.
- VITZTHUM, G. Ein Ameisengast (Acar.). **Mitteilungen der Deutschen Entomologischen Gesellschaft Berlin**. v. 6, p. 89-94, 1941.

- WALTER, D.E., OLIVER JR., J.H. *Geolaelaps oreithyiae*, n. sp. (Acari: Laelapidae), a thelytokous predator of arthropods and nematodes, and a discussion of clonal reproduction in the Mesostigmata. **Acarologia** 30, 293–303, 1990.
- WALTER, D.E.; CAMPBELL, N.J.H. Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Acari: Mesostigmata: Laelapidae), please stand up?. **Biological Control**, v. 26, n. 3, p. 253-269, 2003.
- WRIGHT, E.M.; CHAMBERS, R.J. The biology of the predatory mite *Hypoaspis miles* (Acari: Laelapidae), a potential biological control agent of *Bradysia paupera* (Diptera: Sciaridae). **Entomophaga**, v. 39, n. 2, p. 225-235, 1994.



## 2. DNA BARCODING E DIVERSIDADE DE ÁCAROS EDÁFICOS DA FAMÍLIA LAELAPIDAE (ACARI: MESOSTIGMATA) NOS DIFERENTES BIOMAS BRASILEIROS

### RESUMO

Novas demandas e perspectivas surgem a cada momento na Acarologia no Brasil. A diversidade de ácaros predadores edáficos é grande, porém são escassos os estudos para determinadas famílias. Os estudos da diversidade de ácaros edáficos da família Laelapidae ainda são incipientes nos diferentes biomas no Brasil. Sendo assim, o nosso objetivo foi caracterizar a diversidade, abundância e produção de banco de dados de DNA barcoding de ácaros laelapídeos nos diferentes biomas brasileiros. Coletas foram realizadas nos biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa. Amostras de solo e serrapilheira foram colocadas no funil de berlese para extração dos ácaros. Foi realizada extração não destrutiva de DNA dos laelapídeos coletados e posteriormente montados em lâmina e identificados. A diversidade e abundância foi comparada para cada bioma. Ao todo 131 ácaros laelapídeos foram coletados, sendo identificados os gêneros: *Alloparasitus*, *Cosmolaelaps*, *Gaeolaelaps*, *Gymnolaelaps*, *Ololaelaps*, *Olopticus*, *Pseudoparasitus* e *Stratiolaelaps*. Dentre esses gêneros, *Gaeolaelaps* foi o gênero mais abundante, seguido do gênero *Cosmolaelaps*. Ao todo 27 espécies foram identificadas, destas foi possível o sequenciamento do gene COI para 9 espécies. Foram identificadas sequências NUMTS de COI para duas espécies diferentes de *Gaeolaelaps*. As espécies de *Stratiolaelaps* comercializadas no Brasil, África do Sul e França são uma única espécie, com alta indicação de que seja *S. scimitus*.

Palavras-chave: Ácaros edáficos; Extração de DNA não-destrutiva; Taxonomia integrativa; Diversidade.

### ABSTRACT

New demands and perspectives appear at every moment in Acarology in Brazil. The diversity of edaphic predatory mites is great, but studies for certain families are scarce. Studies on the diversity of edaphic mites in the Laelapidae family are still incipient in Brazil's different biomes. Therefore, our objective was to characterize the diversity, abundance, and production of DNA barcoding databases for laelapid mites in different Brazilian biomes. Collections were carried out in the Amazon, Cerrado, Atlantic Forest, Pantanal, and Pampa biomes. Samples of soil and litter were placed in the Berlese funnel to extract the mites. Non-destructive DNA extraction was performed from the collected laelapids and later mounted on a slide and identified. Diversity and abundance were compared for each biome. Altogether 131 laelapid mites were collected, and the genera were identified: *Alloparasitus*, *Cosmolaelaps*, *Gaeolaelaps*, *Gymnolaelaps*, *Ololaelaps*, *Olopticus*, *Pseudoparasitus*, and *Stratiolaelaps*. Among these genera, *Gaeolaelaps* was the most abundant genus, followed by the *Cosmolaelaps* genus. In all, 27 species were identified, of which it was possible to sequence the COI gene for 9 species. COI NUMTS sequences have been identified for two different species of *Gaeolaelaps*. The species of *Stratiolaelaps* commercialized in Brazil, South Africa, and France are a single species, with a high indication that *S. scimitus*.

Keywords: edaphic mites, Non-destructive DNA extraction, Integrative taxonomy, Diversity

## 2.1. INTRODUÇÃO

Os grupos de ácaros predadores mais estudados pertencem à coorte Gamasina, com destaque para as famílias Phytoseiidae, Laelapidae e Macrochelidae (Gerson et al., 2003; Moraes & Flechtmann, 2008; Hoy, 2011). Isso se deve ao potencial destes como agentes de controle de ácaros-praga e insetos-praga, sendo algumas espécies de predadores já comercializadas em muitos países, inclusive no Brasil. Especificamente, a família Laelapidae Berlese contempla mais de 1300 espécies distribuídas em 90 gêneros (Beaulieu, 2011). É representada por indivíduos cosmopolitas que ocupam uma diversidade de habitats podendo ser de vida livre, encontrados principalmente no solo, ou formas parasitas relacionadas em associação com artrópodes, mamíferos e pássaros (Moreira, 2014).

As espécies de vida livre receberam considerável atenção nos últimos anos como agentes de controle biológico de insetos e ácaros que passam pelo menos parte de suas vidas na superfície do solo. Alguns destes como *Gaeolaelaps aculeifer* (Canestrini), *Stratiolaelaps miles* (Berlese) e *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley), são criados massalmente e comercializados como agentes de controle biológico aplicado para um grande número de pragas já que são predadores generalistas (Freire et al., 2007; Castilho et al. 2009b; Hoy, 2011). No entanto, pouco se sabe sobre a diversidade de espécies de Laelapidae em diferentes regiões brasileiras e o potencial dessas espécies com agentes de controle biológico de pragas. Assim a coleta e identificação constante desse grupo de organismo se faz necessária para descrição de novas espécies, conhecimento da diversidade, abundância e finalmente o potencial como agentes de controle biológico de pragas.

Devido algumas descrições originais de laelapídeos com detalhes insuficientes, existe grande número de sinonímia e homonímia o que tem dificultado a identificação das espécies. Outro problema está relacionado a existências de espécies crípticas dentro de determinados grupos de importância econômica como descrita para o gênero *Stratiolaelaps* (Walter & Campbell, 2003). Em Laelapidae a mais abrangente análise de relações entre as espécies foi proposta por Casanueva (1993), incluindo duas subfamílias e cinco tribos entre laelapídeos de vida livre e os associados a

artrópodes. Entretanto, essa classificação não é universalmente aceita (e.g Krantz & Walter, 2009). Análise recentes a partir de dados moleculares não apontam nenhum suporte para a existência de classificação em nível de subfamília na família Laelapidae (Dowling & O'Connor, 2010).

Além dos problemas taxonômicos relacionados a esta família, a diversidade de suas espécies que apesar de abundante e muito diversa no mundo, é pouco conhecida no Brasil. De maneira geral, o conhecimento da diversidade de ácaros laelapídeos é pouco conhecido, em comparação com o que é conhecido no mundo por outros grupos de ácaros de importância médica e veterinária. Conseqüentemente, pouco se conhece sobre o potencial da maioria desses ácaros predadores como agentes controladores de pragas nos ambientes agrícolas. O uso mais significativo do controle biológico no Brasil depende essencialmente de resultados de pesquisas que complementem os conhecimentos já existentes.

Os estudos taxonômicos clássicos desta família são baseados em observações das diferenças morfológicas entre os organismos (Navajas & Fenton, 2000). A aplicação de ferramentas moleculares para uma abordagem de DNA barcoding tem se demonstrado uma ferramenta bastante útil para descrição de novas espécies e estimativa da diversidade críptica presente nas diversas famílias de ácaros Gamasina (Young et al., 2019 ab). Essa abordagem já extremamente utilizada para alguns grupos de insetos e outros animais, no entanto, ainda é incipiente em estudos com ácaros, principalmente, de ácaros predadores e espécies neotropicais.

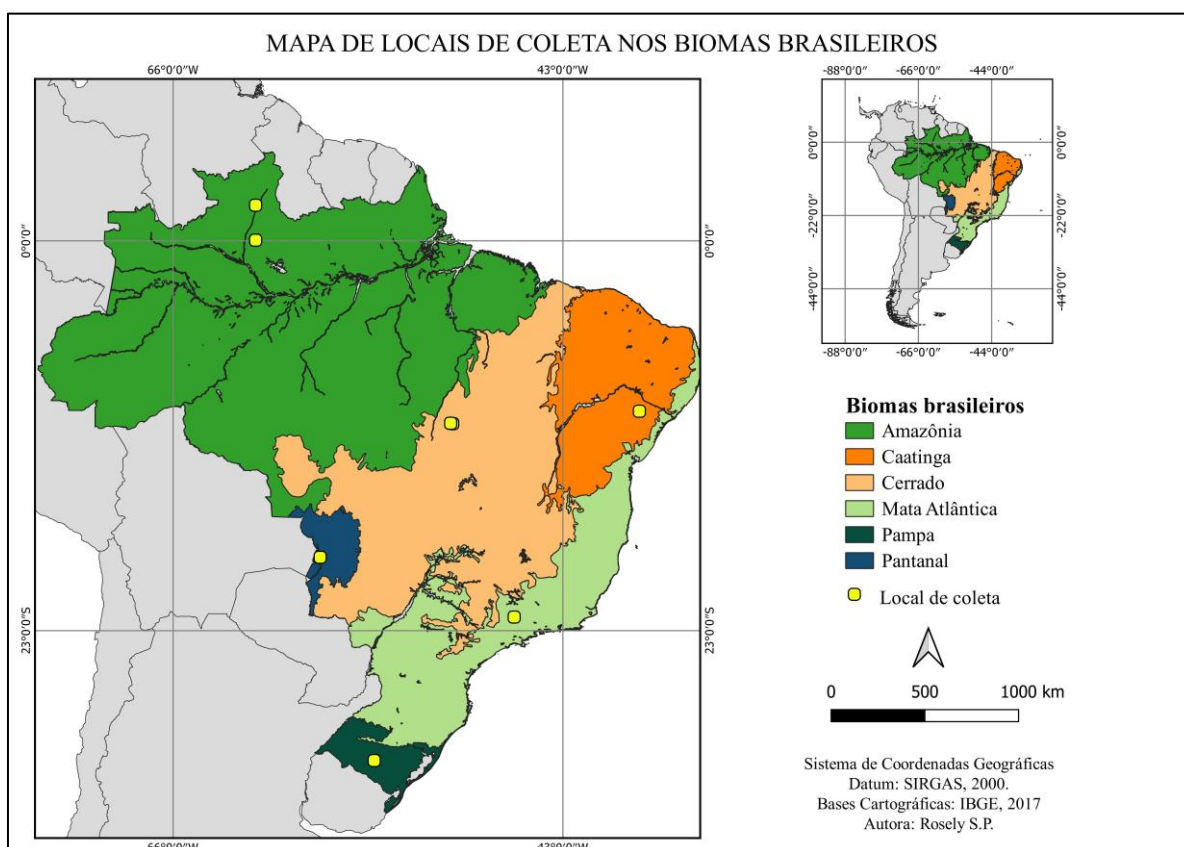
Sendo assim, o nosso objetivo foi determinar a diversidade morfológica e caracterizar um fragmento do gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) das espécies de ácaros da família Laelapidae encontrados nos diferentes biomas brasileiros, com intuito de produzir um banco de dados de DNA Barcoding inédito para esse grupo no Brasil.

## **2.2. MATERIAL E METÓDOS**

### **2.2.1. Amostragem**

Foram realizadas coletas nos meses de Julho/2019 e Janeiro/2020 em pontos específicos nos biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Figura

1 e Tabela 1). Foram coletadas 16 amostras de solo e serrapilheira (quando possível) em áreas de vegetação natural e em cultivos agrícolas característicos de cada região, sendo: a) amazônica: coletas nos municípios de Mucajaí-RR (soja e vegetação natural) e Rorainópolis-RR (maracujá e vegetação natural); b) cerrado: coletas no município de Gurupi-TO (eucalipto e soja); c) Mata Atlântica: coletas no município de Barretos-SP (cana de açúcar e pastagem); d) Pantanal: coletas no município de Miranda-MS (soja e pastagem) e e) Pampa: coletas no município de Pântano Grande-RS (soja e área de campos) conforme tabela 1.



**Figura 1.** Mapa de localização das coletas dos indivíduos de Laelapidae realizadas nos biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal.

As amostras foram coletadas com auxílio de um cilindro metálico (5 cm de altura x 9 cm de diâmetro) e colocados em sacos plásticos devidamente identificados e acondicionados em caixa de isopor com Gelo-x<sup>®</sup> para transporte, mantendo-se a temperatura no interior da caixa em torno de 20 °C, para minimizar a morte dos ácaros.

**Tabela 1.** Detalhamento dos pontos de coletas dos indivíduos de Laelapidae realizadas nos biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal.

<b>Bioma</b>	<b>Estado</b>	<b>Município</b>	<b>Áreas de coleta</b>
Amazônia	RR	Mucajái Rorainópolis	Soja e vegetação natural Maracujá e vegetação natural
Cerrado	TO	Gurupi	Soja, eucalipto e vegetação natural
Mata Atlântica	SP	Barretos	Cana de açúcar, pecuária e vegetação natural
Pantanal	MS	Miranda	Soja, pecuária e vegetação natural
Pampa	RS	Pântano Grande	Eucalipto, soja e vegetação natural

### 2.2.2. Extração dos ácaros das amostras de solo

A extração dos ácaros das amostras de solo foi realizada nos respectivos laboratórios de Entomologia e Acarologia de cada região. Com auxílio de um equipamento do tipo Berlese-Tullgren modificado (Oliveira, 2001), composto por uma caixa de madeira (1,20 m x 0,74 m x 0,70 m) dividida em dois compartimentos. O compartimento superior contém as amostras e as fontes de luz e calor, enquanto o compartimento inferior contém os funis de plástico e os frascos de vidro com uma solução de álcool absoluto para o recebimento dos ácaros (Figura 2).



**Figura 2.** Equipamento Berlese-Tullgren. Fonte: arquivo pessoal da autora.

As amostras permaneceram no coletor pelo período de sete dias, para atingir a temperatura máxima desejada. No primeiro dia, as lâmpadas ficaram apagadas. A



partir do segundo dia, a temperatura foi aumentada gradativamente, pela elevação da intensidade das luzes a cada dia, de forma a permitir um acréscimo diário de temperatura (cerca de 5°C) até atingir 50°C. As lâmpadas atuam como fonte de luz e calor, o que desidrata as amostras gradualmente de cima para baixo durante o processo de extração.

### **2.2.3. Triagem das amostras**

O material coletado em cada frasco foi transferido para uma placa de Petri para observação sob estereomicroscópio com aumento de 40x. O reconhecimento dos espécimes foi feito a partir da observação dos caracteres morfológicos comuns para diferenciar algumas fêmeas: placa genital em formato de frasco (gota) bem separada de uma placa anal triangular, ou a placa genital larga se apoiando sobre a placa anal, além do escudo dorsal esclerotizado e não dividido. Espécimes muitos semelhantes aos laelapídeos também foram separados. Demais ácaros e insetos foram preservados para futuros estudos da equipe do Laboratório de Acarologia da USP/ESALQ.

### **2.2.4. Extração de DNA**

A extração não destrutiva de DNA dos espécimes coletados foi realizada no Laboratório de Ecologia Molecular de Artrópodes da USP/ESALQ, seguindo protocolo adaptado de Gilbert et al. (2007). Antes de iniciar o processo de extração não destrutiva de DNA, cada ácaro foi lavado com auxílio de um pincel em água e posteriormente colocado para secar em cima de um papel toalha na câmara de fluxo. Após secos cada ácaro foi colocado em eppendorfs individualmente e imersos no tampão de extração.

O protocolo adaptado de Gilbert et al. (2007) consiste em: preparar tampão de extração (3µL de CaCl<sub>2</sub> 1M, 20mg de SDS 2%, 40µL de DTT, 100µL de Tris buffer pH 8, 20µL de NaCl e completar com 800µL H<sub>2</sub>O MilliQ (para 1 mL de buffer)). Colocar o ácaro em eppendorf de 1,5 mL totalmente imerso no tampão de digestão (500µL) e adicionar 10µL de proteinase K (20 mg/ml). Incubar overnight (14 a 20 horas) a 65°C em banho maria. Transferir o produto da extração para novo tubo (1,5 mL) e adicionar Etanol 100% no eppendorf contendo o ácaro para parar o processo de digestão, posteriormente lavar o ácaro com água e reidratá-lo com álcool a 70%.

Adicionar 500µL de Clorofórmio Álcool Isoamílico (25:24:1) no eppendorf contendo o produto da extração. Vortexar (velocidade média) por 2 segundos e centrifugar a 13000 RPM por 10 minutos em temperatura ambiente. Transferir o sobrenadante para um novo eppendorf e adicionar 1/10 do volume total de Acetato de Sódio (3M, pH 5,2) e 2,5µL de glicogênio (5mg/mL). Adicionar 0,7X de Isopropanol 100% gelado ao volume de DNA. Misturar gentilmente 10X por inversão e incubar a -20 °C por 2 horas. Centrifugar a 13000 rpm/30 minutos a 4°C. Descartar a fase líquida e adicionar 500µL de Etanol 70% ao pellet de DNA. Descartar a fase líquida novamente e adicionar 500µL de Etanol 95% gelado ao pellet de DNA. Descartar a fase líquida e secar completamente o pellet em câmara de fluxo. Adicionar 30µL de H<sub>2</sub>O MilliQ para eluir completamente o DNA.

### **2.2.5. Identificação morfológica**

Após extração não destrutiva de DNA dos indivíduos, os ácaros foram lavados com água e reidratados com álcool a 70% para posterior montagem individual em lâmina de microscopia, utilizando-se meio de Hoyer (Moraes & Flechtmann, 2008), posteriormente, levados a estufa para diafanizar (45-55 °C), por um período de 7 dias. Em seguida, foram retirados e as margens das lamínulas sobre as lâminas foram vedadas com verniz acrílico.

Para identificação, os ácaros foram observados com auxílio de um microscópio óptico de contraste de fases e identificados ao nível de gênero com auxílio de chaves de identificação disponibilizadas no “II Treinamento em reconhecimentos de ácaros Mesostigmata de importância agrícola (Phytoseiidae, Ascidae sensu lato, Laelapidae, Rhodacaroidea, Macrochelidae, Parasitidae e Ameroseiidae)”, realizado pela autora na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba/SP.

### **2.2.6. Amplificação e sequenciamento do fragmento do gene COI**

Nós amplificamos e sequenciamos o primeiro terço do gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) de pelo menos um indivíduo de cada morfotipo de Laelapidae encontrado nas nossas amostras oriundas de diferentes biomas brasileiros.

A amplificação da região da COI foi realizada com o par de primers LCO1490 (5' GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G 3') e HCO2198 (5' TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA 3') (FOLMER et al., 1994) e os primers LepF (5' ATT CAA CCA ATC ATA AAG ATA TTG G 3') e LepR (5' TAA ACT TCT GGA TGT CCA AAA AAT CA 3'). A PCR foi realizada em volume de 25µL, contendo: 12,65µL de H<sub>2</sub>O, 2,5µL de 10X PCR Buffer, 0,75µL de 50mM MgCl<sub>2</sub>, 1µL de cada Primer, 2µL de 2,5mM dNTPs, 0,1µL de Platinum™ Taq DNA polimerase e 5µL de DNA do indivíduo.

A amplificação foi realizada seguindo a programação: ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 3min, seguido por 40 ciclos de 94°C por 45s, anelamento dos primers a 53°C durante 45s, 72°C durante 2min e uma extensão final a 72°C durante 10min. para permitir o alongamento dos fragmentos de DNA sintetizados de forma incompleta. Os controles negativos foram executados simultaneamente. O resultado de cada PCR foi observado por eletroforese em gel de agarose de 1,5% corados em syber safe (Life Technologies).

Após a amplificação, as amostras foram purificadas com 1µL de Exonuclease e 2µL de FasTap (para cada 10µL de amostra), com a seguinte programação: 37°C durante 30min seguido de 80°C durante 15min. Posteriormente as amostras foram enviadas para sequenciamento bidirecional de Sanger, no Laboratório de Biologia Molecular de Plantas, Departamento de Ciências Biológicas - USP/ESALQ para que fossem conhecidas as seqüências dos fragmentos de cada indivíduo.

## **2.2.7. Análise de dados**

### **2.2.7.1 Diversidade Morfológica**

Para cada área de coleta foram calculados os índices de diversidade de Shannon (H') e de equitabilidade (J). O índice de diversidade de Shannon (H') indica a diversidade de espécies, considerando a riqueza (número de espécies) e a abundância de cada espécie. Os dados obtidos podem variar entre 1 e 5, sendo que quão maior a diversidade, mais elevado o índice.

O índice de equitabilidade (J) estima a uniformidade em abundância de indivíduos entre as espécies da comunidade avaliada. Quando todas as espécies em uma amostra são igualmente abundantes, esse índice deve assumir valor máximo,

decrecendo à medida que as abundâncias relativas das espécies divergirem desta igualdade. As equações para cálculo de cada índice são:

$$H' = \sum p_i (\ln p_i)$$

$$J = H'/H_{\max}$$

Os dados de abundância de ácaros foram submetidos a ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a nível de significância de 5%, para comparação da diversidade encontrada entre os biomas brasileiros.

### 2.2.7.2. Edição e alinhamento das sequências de COI

As sequências obtidas foram exportadas utilizando o software Sequencher. As sequências forward e reverse foram agrupadas e uma verificação cuidadosa dos nucleotídeos baseada na qualidade do cromatograma foi realizada. Regiões que apresentaram o cromatograma com baixa qualidade (sinal dos picos fraco ou picos duplos) foram removidas manualmente da sequência. Por fim, a sequência consenso de cada indivíduo sequenciado foi definida utilizando a sequência forward e reverse e transferidas manualmente para um arquivo fasta.

As sequências foram posteriormente analisadas utilizando o software MEGA X (Kumar et al., 2018). Presença de NUMTs (*Nuclear Mitochondrial DNA*) foi aferida seguindo os seguintes passos: (a) indels que promovem alterações em toda composição de códons da sequência de DNA (frameshift mutation), (b) presença de código de parada que levam ao término prematuro da proteína, e (c) alta taxa de mutações não sinônimas na sequência de DNA. A presença simples das assinaturas (a) e (b) são suficientes para considerar uma determinada sequência como NUMT. Apenas a presença da assinatura (c) não é utilizada para declarar uma sequência como NUMT.

### 2.2.7.3. Cálculo da distância genética

As sequências foram alinhadas utilizando o algoritmo Clustal W e a distância genética par-a-par entre as sequências aplicando o modelo evolutivo Kimura-dois-parâmetros (K2P) com 5000 repetições de bootstrap foram inferidas utilizando o

Software MEGA X. A escolha do modelo evolutivo foi devido a capacidade maximizar a distância genética entre as sequências de DNA. Sendo o modelo evolutivo Kimura dois-parâmetros (K2P), aquele recomendado para análise de distâncias genéticas intra e interespecíficas para determinação de espécies utilizando DNA barcoding (Hebert et al., 2003).

#### 2.2.7.4. Análises filogenéticas

As sequências de COI dos diferentes indivíduos de Laelapidae foram submetidas a uma análise filogenética bayesiana. Para isso, foi inicialmente calculado o modelo evolutivo que melhor se adequava o conjunto de sequências de COI aqui produzidas utilizando o aplicativo MRMODELTEST v2.3 (Nylander, 2004). O modelo evolutivo selecionado foi o GTR+G+I. Posteriormente, a árvore bayesiana foi construída utilizando o aplicativo MrBAYES v3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), utilizando duas corridas simultâneas de 10 milhões de gerações cada, com uma cadeia fria e três cadeias quentes em cada corrida. No final das corridas, os primeiros 25% das árvores foram descartados como amostras de *burn-in*. A árvore de consenso das duas corridas independentes foi obtida com probabilidades posteriores > 0,50. Nós utilizamos como outgroup um fragmento do gene COI depositado no GenBank (número de acesso: MG416119) da espécie *Macrocheles muscaedomesticae* (Mesostigmata: Macrochelidae).

#### 2.2.7.5. Comparação do DNA barcoding de *Stratiolaelaps scimitus* e *S. miles* comercializados em diferentes regiões do mundo

Indivíduos oriundos do bioma Amazônia e de três populações de *Stratiolaelaps* sp. comercializados (empresa PROMIP, produto comercial: Stratiomip, espécie *S. scimitus*), França (empresa Kopert, produto comercial: Entomite-M, espécie *S. scimitus*) e África do Sul (produto comercial: espécie *S. miles*) tiveram seu DNA barcoding sequenciados utilizando os mesmos protocolos descritos nas etapas anteriores. Todos os espécimes foram mortos e conservados em álcool 95% e em freezer – 20°C).

Adicionalmente, nós inserimos no nosso banco de dados de *Stratiolaelaps* as sequências de COI produzidas por Walter & Campbell (2003) depositadas no NCBI/Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) com número de acesso AY184365–AY184369. Posteriormente, repetimos os procedimentos de alinhamento, cálculo da distância genética entre as sequências e produzimos uma árvore filogenética bayesiana seguindo rigorosamente as metodologias e aplicativos descritos anteriormente na metodologia. A única alteração foi a utilização da sequência de *Cosmolaelaps* sp5 (AM090) como outgroup.

## 2.3. RESULTADOS

### 2.3.1. Diversidade morfológica e diversidade ecológica de espécies de Laelapidae

No total foram encontrados entre adultos e imaturos 131 ácaros pertencentes a família Laelapidae. Sendo: Amazônia (35 indivíduos), Cerrado (22 indivíduos), Mata Atlântica (14 indivíduos), Pantanal (25 indivíduos) e Pampa (35 indivíduos).

Em todos os biomas foram encontrados 71 ácaros laelapídeos nas diferentes áreas de cultivos existentes, com maior abundância de indivíduos no bioma Pampa (Tabela 2). Em áreas de vegetação natural foram encontrados apenas 44 indivíduos nos biomas Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica. Nos biomas Pampa e Pantanal não foram encontrados indivíduos laelapídeos nas áreas de vegetação natural. Em áreas de Pecuária foram encontrados indivíduos apenas nos biomas Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal (onde houve disponibilidade de tais tratamentos) conforme tabela 2.

**Tabela 2.** Abundância de ácaros da família Laelapidae encontrados em áreas de cultivo, vegetação natural e pecuária nos diferentes biomas brasileiros.

<b>Biomas</b>	<b>Cultivo</b>	<b>Vegetação natural</b>	<b>Pecuária</b>	<b>Total Geral</b>
Amazônia	5	30		35
Cerrado	10	11	1	22
Mata Atlântica	7	3	4	14
Pampa	35			35
Pantanal	14		11	25
<b>Total Geral</b>	<b>71</b>	<b>44</b>	<b>16</b>	<b>131</b>

As espécies encontradas pertencem aos gêneros: *Alloparasitus* Berlese, 1920; *Cosmolaelaps* Berlese, 1903; *Gaeolaelaps* Evans & Till, 1966; *Gymnolaelaps* Berlese,

1916; *Ololaelaps* Berlese, 1903; *Oloopticus* Karg, 1978; *Pseudoparasitus* Oudemans, 1902 e *Stratiolaelaps* Berlese, 1882 (Tabela 2).

Os gêneros mais abundantes foram *Gaeolaelaps* (55 indivíduos) encontrado em todos os biomas e *Cosmolaelaps* (36 indivíduos) encontrado em todos os biomas, exceto no Pantanal. O gênero *Pseudoparasitus* (14 indivíduos) foi encontrado apenas nos biomas Amazônia, Pantanal e Pampa. Os gêneros *Stratiolaelaps*, *Oloopticus*, *Alloparasitus*, *Ololaelaps* e *Gymnolaelaps* foram encontrados em menores quantidades, sendo 6, 6, 4, 2 e 1 indivíduos, respectivamente (Tabela 3).

**Tabela 3.** Abundância de ácaros da família Laelapidae encontrados nos diferentes biomas brasileiros.

Gêneros	Mata					Total
	Amazônia	Cerrado	Atlântica	Pantanal	Pampa	
<i>Alloparasitus</i>	4					4
<i>Cosmolaelaps</i>	17	9	3		7	36
<i>Gaeolaelaps</i>	2	7	7	18	21	55
<i>Gymnolaelaps</i>	1					1
<i>Ololaelaps</i>	1	1				2
<i>Oloopticus</i>	6					6
<i>Pseudoparasitus</i>	4			6	4	14
<i>Stratiolaelaps</i>			3		3	6
imatuross		5	1	1		7
<b>Total Geral</b>	<b>35</b>	<b>22</b>	<b>14</b>	<b>25</b>	<b>35</b>	<b>131</b>

Ao todo 27 espécies de Laelapidae foram encontradas distribuídas nos oito gêneros identificados neste estudo (Tabela 4). A espécie mais abundante foi *Cosmolaelaps* sp2, encontrada nos biomas Amazônia, Cerrado e Pampa. Foram identificados seis espécies no gênero *Gaeolaelaps* e cinco espécies no gênero *Cosmolaelaps*. Apesar de não ter sido encontrado em abundância, no gênero *Pseudoparasitus* foram identificadas quatro espécies, presentes nos biomas Amazônia, Pantanal e Pampa. Nos gêneros *Alloparasitus*, *Gymnolaelaps*, *Ololaelaps*, *Oloopticus* e *Stratiolaelaps* foi encontrado apenas uma espécie de cada.

**Tabela 4.** Espécies de Laelapidae encontrados em cultivos agrícolas e áreas de vegetação natural nos biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa.

<b>Espécies</b>	<b>Amazônia</b>	<b>Cerrado</b>	<b>Mata Atlântica</b>	<b>Pantanal</b>	<b>Pampa</b>	<b>Total</b>
<i>Alloparasitus</i> sp*	4					4
<i>Cosmolaelaps</i> sp	1					1
<i>Cosmolaelaps</i> sp1*	5		1			6
<i>Cosmolaelaps</i> sp2*	5	8			5	18
<i>Cosmolaelaps</i> sp3*			1		2	3
<i>Cosmolaelaps</i> sp4	1					1
<i>Cosmolaelaps</i> sp5	3					3
<i>Cosmolaelaps</i> sp6	2					2
<i>Cosmolaelaps</i> sp7			1			1
<i>Cosmolaelaps</i> sp8		1				1
<i>Gaeolaelaps</i> sp1*		3	3	1		7
<i>Gaeolaelaps</i> sp2*		1	1		3	5
<i>Gaeolaelaps</i> sp3*		1		3	2	6
<i>Gaeolaelaps</i> sp4	1	2	3	6		12
<i>Gaeolaelaps</i> sp5				3		3
<i>Gaeolaelaps</i> sp6					15	15
<i>Gaeolaelaps</i> sp7	1			5		6
<i>Gaeolaelaps</i> sp8					1	1
<i>Gymnolaelaps</i> sp*	1					1
<i>Ololaelaps</i> sp	1	1				2
<i>Oloopticus</i> sp	6					6
<i>Pseudoparasitus</i> sp*				2	1	3



<i>Pseudoparasitus</i> sp1	3					3
<i>Pseudoparasitus</i> sp2	1			3		4
<i>Pseudoparasitus</i> sp3				1		1
<i>Pseudoparasitus</i> sp4					3	3
<i>Stratiolaelaps</i> sp imatuos		5	3	1	3	6
<b>Total de indivíduos</b>	<b>35</b>	<b>22</b>	<b>14</b>	<b>25</b>	<b>35</b>	<b>131</b>

\* Espécies com o DNA barcoding sequenciado

Em relação ao índice de diversidade, o bioma Amazônia apresentou o maior índice comparado aos encontrados para os biomas Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Pampa (Tabela 4). Em relação à equitabilidade, o maior valor foi encontrado na Mata Atlântica e a dominância foi maior em áreas do Cerrado.

**Tabela 4.** Índice de Shannon-Wiener para diversidade e equitabilidade, dos ácaros laelapídeos encontrados nos diferentes biomas brasileiros.

<b>Bioma</b>	<b>Diversidade (H')</b>	<b>Equitabilidade (J')</b>	<b>Simpson (D)</b>
Amazônia	2,338*	0,911	0,112
Cerrado	1,440	0,804	0,313
Mata Atlântica	1,804	0,927	0,183
Pantanal	1,925*	0,926	0,163
Pampa	1,723	0,828	0,247

\*Indica que o resultado entre os biomas foi diferente estatisticamente pelo Teste de tukey comparando a Diversidade (H') para um nível de significância ( $\alpha$ ) de 5% de probabilidade.

### 2.3.2 DNA barcoding de Laelapidae de diferentes biomas brasileiros

Nós conseguimos adaptar com sucesso o processo de extração do DNA genômico total com metodologia não destrutiva do corpo do ácaro permitindo a identificação morfológico a nível específico da espécie após a extração do DNA.

Foram produzidas com sucesso DNA barcoding para 9 espécies de ácaros e 5 diferentes gêneros da família Laelapidae: *Alloparasitus* sp, *Cosmolaelaps* sp1, *Cosmolaelaps* sp2, *Cosmolaelaps* sp3, *Gaeolaelaps* sp1, *Gaeolaelaps* sp2, *Gaeolaelaps* sp3, *Gymnolaelaps* sp e *Pseudoparasitus* sp. A composição nucleotídica de cada sequência de DNA barcoding é apresentada no Apêndice A. As sequências foram editadas para garantir uma extrema qualidade dos dados baseado na avaliação do cromatograma. Assim a menor sequência possui 475 pb para *Gaeolaelaps* sp3 e a maior sequência com 696 pb para *Cosmolaelaps* sp2 (Apêndice A).

Para as espécies *Gaeolaelaps* sp1 (AM003) e *Gaeolaelaps* sp2 (AM012) a sequência do gene COI apresentou fortes sinais de presença de NUMTs (pseudogene) e conseqüentemente foram descartadas do nosso banco de dados de DNA barcoding. A decisão foi tomada devido a presença de códigos de paradas ao longo das sequências do gene e por gerar indels (inserção/deleção) durante o

processo de alinhamento com as demais sequências de COI de Laelapidae geradas na dissertação. A composição nucleotídica de cada uma das sequências identificadas como NUMTs são apresentadas no Apêndice B.

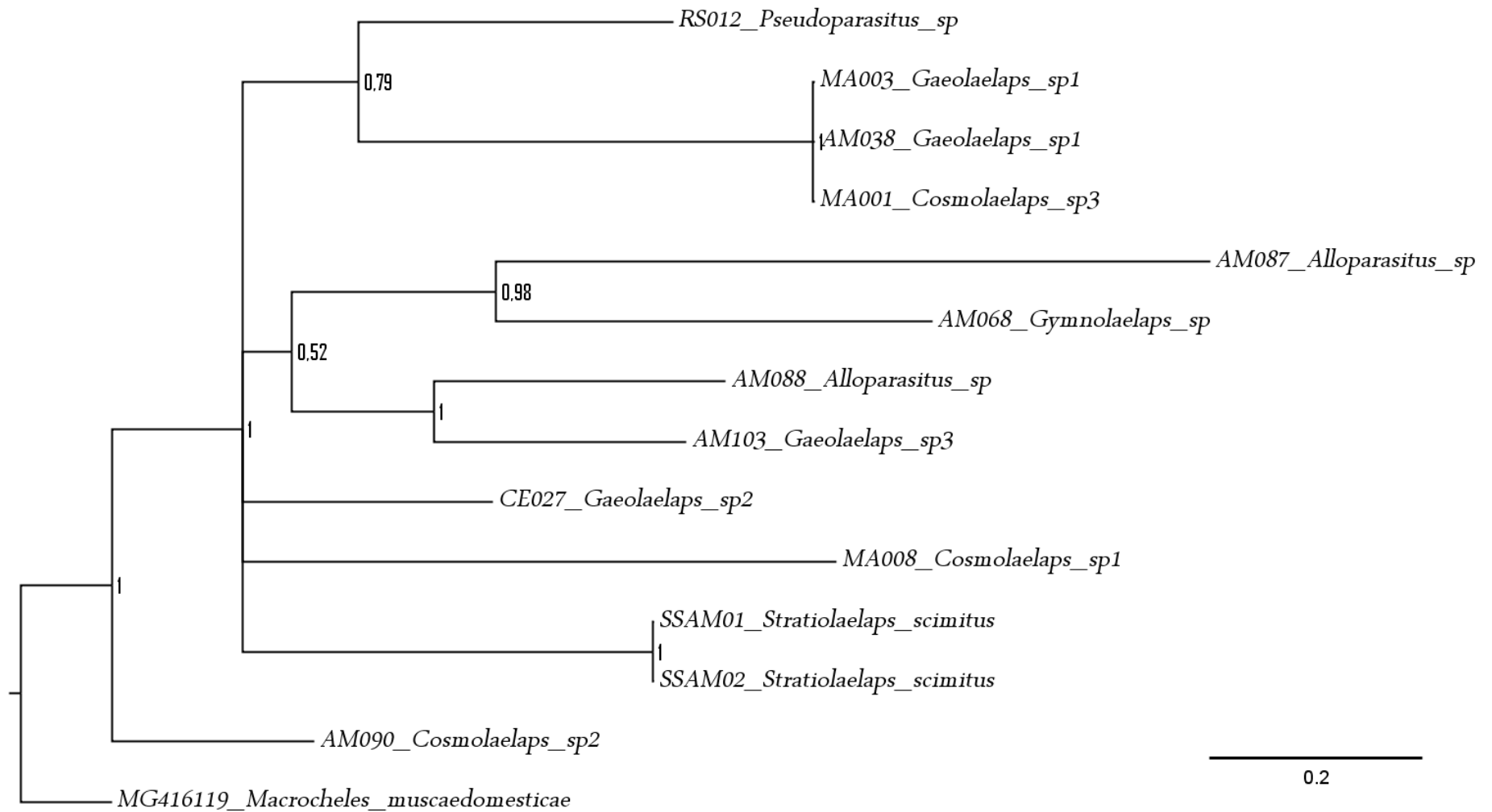
A distância genética entre os fragmentos dos genes COI de diferentes espécies de Laelapidae (interespecífica) variou de 0,26 a 0,49, o que indica que o gene COI apresentou grande diversidade nucleotídica dentro da família Laelapidae (Tabela 5). Com exceção das espécies *Cosmolaelaps* sp3 e *Gaeolaelaps*\_sp1 que apresentaram DNA Barcoding similares (Tabela 5).

A análise filogenética bayeasiana realizada com a região barcode (COI) não resultou em uma estrutura de ramos onde as espécies do mesmo gênero são mais aparentadas (Figura 3). A grande falta de concordância das relações entre as espécies sugere que essa região do COI não é uma região útil para resolver as relações filogenéticas e de parentesco entre gêneros dentro da família Laelapidae.

**Tabela 5.** Distância genética entre as espécies de Laelapidae calculadas a partir do alinhamento de um fragmento do gene Citocromo c Oxidase Subunidade I.

<b>Espécies de Laelapidae</b>	RS012	AM087	AM088	AM068	AM103	MA003	AM038	CE027	MA001	AM090	MA008	SSAM01
<i>RS012_Pseudoparasitus_sp</i>												
<i>AM087_Alloparasitus_sp</i>	0,47											
<i>AM088_Alloparasitus_sp</i>	0,37	0,46										
<i>AM068_Gymnolaelaps_sp</i>	0,42	0,48	0,41									
<i>AM103_Gaeolaelaps_sp3</i>	0,39	0,51	0,32	0,49								
<i>MA003_Gaeolaelaps_sp1</i>	0,31	0,44	0,33	0,43	0,38							
<i>AM038_Gaeolaelaps_sp1</i>	0,31	0,44	0,33	0,43	0,38	<b>0,00</b>						
<i>CE027_Gaeolaelaps_sp2</i>	0,31	0,48	0,34	0,39	0,32	0,37	0,37					
<i>MA001_Cosmolaelaps_sp3</i>	0,31	0,44	0,33	0,43	0,38	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	0,37				
<i>AM090_Cosmolaelaps_sp2</i>	0,36	0,47	0,37	0,40	0,34	0,40	0,40	0,34	0,40			
<i>MA008_Cosmolaelaps_sp1</i>	0,38	0,49	0,32	0,45	0,40	0,36	0,36	0,39	0,36	0,43		
<i>SSAM01_Stratiolaelaps_scimitus</i>	0,27	0,49	0,36	0,40	0,34	0,26	0,26	0,31	0,26	0,36	0,31	
<i>SSAM02_Stratiolaelaps_scimitus</i>	0,27	0,49	0,36	0,40	0,34	0,26	0,26	0,31	0,26	0,36	0,31	<b>0,00</b>

\* *Ítalo* e **negrito** = Distância genética < 0,10



**Figura 3.** Árvore filogenética bayesiana de um fragmento do gene Citocromo c Oxidase Subunidade I (COI) para as espécies de Laelapidae (Acari: Mesostigmata). *Macrocheles muscaedomesticae* foi utilizado como outgroup.

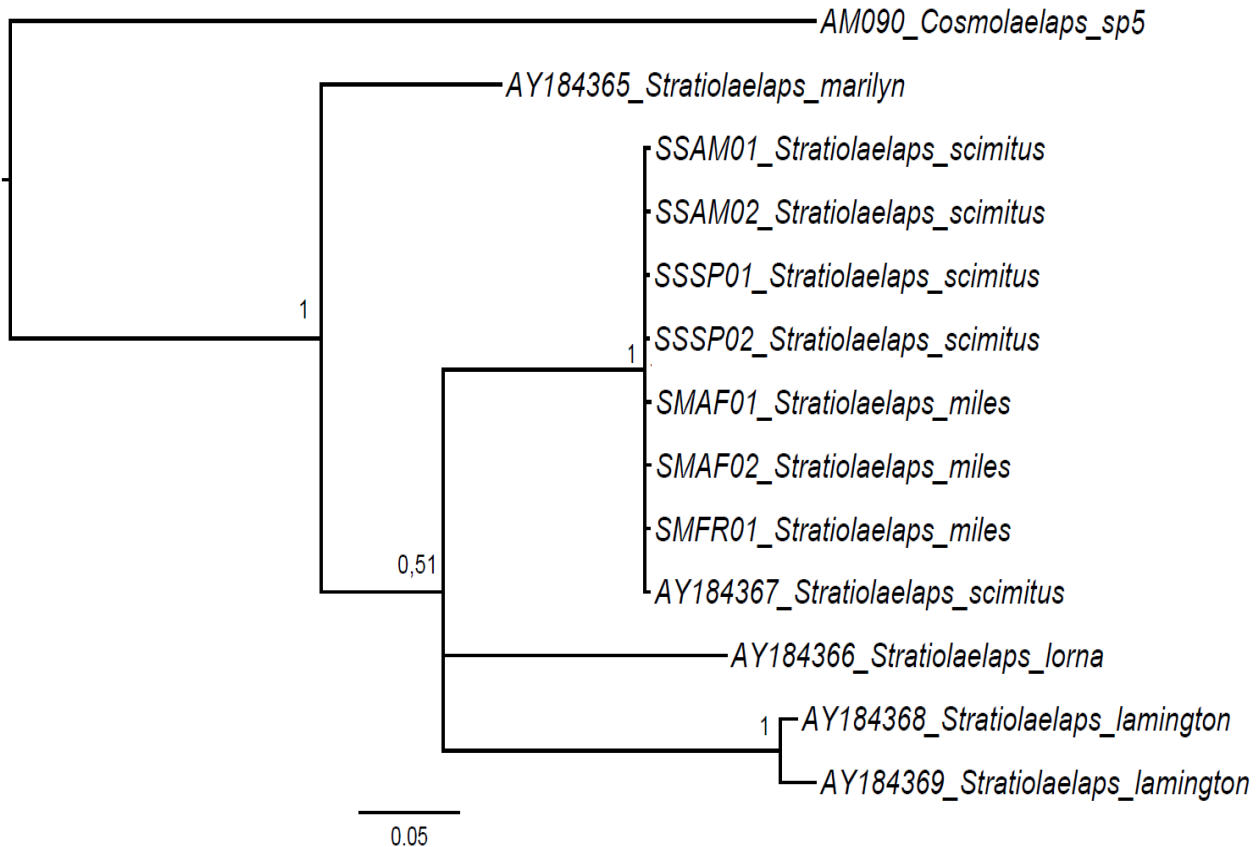
### 2.3.3. DNA barcoding de *Stratiolaelaps scimitus* e *Stratiolaelaps miles* comercializados em diferentes continentes do mundo

Os resultados de distância genética não demonstraram variação nucleotídica entre as sequências de DNA barcoding entre as espécies de *S. scimitus* e *S. miles* oriundas de diferentes regiões do mundo que incluem Brasil, França, África do Sul e Austrália (Tabela 6). Já a distância genética intraespecífica da espécie *S. lamington* foi de 0,03, enquanto a distância genética entre as demais espécies variou de 0,18 de *S. marilyn* e *S. scimitus/S. miles* e 0,27 entre *S. lamington* e *S. lorna* (Tabela 6).

**Tabela 6.** Distância genética entre as espécies de *Stratiolaelaps* calculadas a partir do alinhamento de um fragmento do gene Citocromo c Oxidase Subunidade I (COI). *Stratiolaelaps* oriundas do bioma Amazônia (SSAM01 e SSAM02), empresa PROMIP (SSSP01 e SSSP02), Koppert França (SMFR01) e empresa da África do Sul (SMAF01 e SMAF02) e dos produzidos por Walter & Campbell (2003) (AY184365–AY184369).

<i>Stratiolaelaps</i>	SSAM01	SSAM02	SSSP01	SSSP02	SMAF01	SMAF02	SMFR01	AY184365	AY184366	AY184367	AY184368
SSAM01_ <i>S. scimitus</i>											
SSAM02_ <i>S. scimitus</i>	0,00										
SSSP01_ <i>S. scimitus</i>	0,00	0,00									
SSSP02_ <i>S. scimitus</i>	0,00	0,00	0,00								
SMAF01_ <i>S. miles</i>	0,00	0,00	0,00	0,00							
SMAF02_ <i>S. miles</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00						
SMFR01_ <i>S. miles</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00					
AY184365_ <i>S. marilyn</i>	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18				
AY184366_ <i>S. lorna</i>	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,22			
AY184367_ <i>S. scimitus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,19		
AY184368_ <i>S. lamington</i>	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,26	0,22	
AY184369_ <i>S. lamington</i>	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,24	0,27	0,25	0,03

A árvore filogenética bayesiana confirmou os resultados apresentados na tabela 6 de distância genética e sugere que as espécies *S. scimitus/S. miles* são mais próximas filogeneticamente da espécie *S. lorna* (Figura 4). Enquanto a espécie *S. marilyn* é a mais distinta filogeneticamente entre as espécies de *Stratiolaelaps* aqui avliadas (Figura 4).



**Figura 4.** Árvore filogenética bayesiana de um fragmento do gene Citocromo c Oxidase Subunidade I (COI) para as espécies de *Stratiolaelaps* oriundas do bioma Amazônia (SSAM01 e SSAM02), empresa PROMIP (SSSP01 e SSSP02), Koppert França (SMFR01) e Koppert África do Sul (SMAF01 e SMAF02) e dos produzidos por Walter & Campbell (2003) (AY184365–AY184369).

## 2.4 DISCUSSÃO

### 2.4.1 Diversidade morfológica e diversidade ecológica de espécies de Laelapidae

A maior abundância e diversidade de ácaros laelapídeos no Brasil foi encontrada no bioma Amazônia. Entre as 27 espécies de Laelapidae encontradas neste estudo, 14 foram encontradas no bioma Amazônia, que apresentou o maior índice de diversidade ecológica. A estimativa da biodiversidade de um habitat, leva em consideração a quantidade de espécies presentes, bem como a abundância de cada espécie.

O bioma Amazônia é um dos biomas com maior biodiversidade do mundo podendo fornecer uma gama de substratos alimentares e locais para o desenvolvimento de espécies edáficas. As áreas de vegetação natural em sua maioria

não apresentam interferência antrópica, o que favorece a estruturação do solo, proporcionando uma melhor porosidade, favorecendo a movimentação dos ácaros através das camadas do solo na busca de alimento. Além disso a Amazônia abriga uma infinidade de espécies vegetais e animais. Entre os animais, a maior parte é de insetos, e alguns destes passam parte do seu ciclo de vida no solo, onde servem de alimentos principalmente para os ácaros edáficos (Campos, 2011).

Na Amazônia, os estudos sobre ácaros Gamasina são escassos, principalmente relacionados a famílias específicas como Laelapidae. Estudos sobre a acarofauna edáfica são relatados a partir de Beck (1967), demonstrando que metade da acarofauna da Amazônia Central é composta por ácaros oribatídeos e não Gamasina (Franklin et al., 2001; 2006; 2007; Santos et al., 2008). A abundância de ácaros edáficos, incluindo os Laelapidae já é relatada nos biomas Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica (Mineiro & Moraes, 2001; Silva et al., 2004; Franklin et al., 2006; Castilho & Moraes, 2010; Azevedo, 2017).

Os gêneros *Cosmolaelaps* e *Gaeolaelaps*, relatados neste estudo, são comumente encontrados em levantamento da acarofauna edáfica (Santos, 2013; Azevedo, 2017). *Cosmolaelaps* é relatado na literatura como predador de colêmbolas, ovos e larvas de dípteros e nematoides (Moreira & Moraes, 2015). *Cosmolaelaps* sp. nr. foi relatado alimentando-se de larvas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Noctuidae) (Beaulieu & Walter, 2007). A presença destes organismos em diversas áreas de cultivo está associada a presença de ovos e larvas de insetos e nematoides que servem como alimentos para estes organismos. Futuros estudos são necessários para avaliar o potencial destes organismos para o controle biológico de pragas existentes nestas áreas.

Os ácaros *Gaeolaelaps* mencionados neste estudo são relatados na literatura como predadores agressivos de uma grande variedade de presas de artrópodes e nematóides. A maioria dos estudos biológicos desse gênero se refere a *G. aculeifer*, espécie aparentemente bem distribuídas na Europa e na América do Norte. Em Roraima ácaros desse gênero são relatados em abundância em áreas de cultivo de soja e fragmentos de floresta amazônica e Savana (Pereira et al., dados não publicados).

O gênero *Pseudoparasitus* encontrado nos biomas Amazônia, Pantanal e Pampa é um gênero cosmopolita e atualmente consiste em cerca de 30 espécies, encontradas no solo e na serapilheira, frequentemente associadas a plantas



ornamentais (Hunter, 1966; Joharchi et al., 2011b). Estes ácaros também são relatados em outros estudos de diversidade da acarofauna edáfica (Azevedo, 2017; Santos, 2013).

Outro gênero de Laelapidae encontrado neste estudo foi o *Alloparasitus*, ainda não havia sido relatado em estudos da acarofauna edáfica no Brasil. Neste gênero, encontram-se descritos apenas 10 espécies (Huhta & Karg, 2010; Moreira & Moraes, 2015).

Apenas um indivíduo do gênero *Oloaelaps* foi encontrado neste estudo, também em área de vegetação natural no bioma Amazônia. As espécies deste gênero são cosmopolitas e podem ser encontradas no solo e na serapilheira de ambientes úmidos, florestas e perto de corpos d'água (margens de rios, margens de lagos), bem como em ninhos de roedores e insetívoros, ou com menos frequência nos próprios mamíferos e nos ninhos de pássaros (Ryke, 1962; Bregetova & Koroleva, 1964). Este gênero contempla 26 espécies, predadores de nematóides, colêmbolas e outros ácaros, e que também invertebrados mortos (Hurlbutt, 1958; Bregetova & Koroleva, 1964; Walter et al., 1988). O gênero precisa claramente de revisão, pois a identidade e os limites taxonômicos da maioria das espécies não são claros, incluindo a maioria das 11 espécies descritas desde as revisões de Ryke (1962) e Bregetova & Koroleva (1964).

Em *Oloopticus*, as espécies relatadas até agora na literatura têm sido encontradas em folheto e solo da Argentina (Karg, 1978; aproximadamente entre 422 e 876m de altitude), Equador (Karg, 1997, 2000a, 2003a, 2003b, 2006; aproximadamente entre 820 e 2850m de altitude), Costa Rica (Karg, 2000a; aproximadamente entre 50 e 150m de altitude) e recentemente no Brasil em áreas de cultivo e fragmentos de vegetação natural em Tocantins (Azevedo, 2017). O papel que estes ácaros podem ter no ecossistema é ainda desconhecido para a ciência.

*Oloopticus* tem um conjunto de características morfológicas únicas dentro da família Laelapidae, que inclui a presença de um escudo genitoventrianal (o que fez com que Karg (1978) o colocasse inicialmente como subgênero de *Pseudoparasitus*), setas robustas distais no tarso II, escudos pré-esternais não distinguíveis, deutoesterno com cinco fileiras de dentículos e uma fileira posterior lisa e mais estreita que as outras, e st4 aparentemente substituída por uma cavidade redonda (bst4).

Foram encontrados espécimes de *Stratiolaelaps* nos biomas Amazônia, Mata Atlântica e Pampa. Nesse gênero existem espécies como *S. scimitus* e *S. miles* já

comercializadas para o controle biológico de moscas Sciaridae (Walter & Campbell, 2003; Cabrera et al., 2005). Reforçando a necessidade do conhecimento da diversidade de ácaros edáficos para consolidar estudos de controle biológico de pragas.

#### **2.4.2 DNA barcoding de Laelapidae de diferentes biomas brasileiros**

Nós conseguimos adaptar com sucesso o processo de extração do DNA genômico total com metodologia não destrutiva do corpo do ácaro permitindo a identificação morfológica a nível específico da espécie após a extração do DNA. Acreditamos que esse passo é um grande limitante em trabalhos voltados para a produção do DNA barcoding em ácaros e outros artrópodes de pequeno tamanho, uma vez que a identificação morfológica precisa do exato ácaro que o DNA barcoding foi sequenciado é um passo imprescindível para o sucesso dessa técnica de identificação molecular (Navajas & Fenton, 2008).

Foram produzidos com sucesso DNA barcoding para 9 das 27 espécies de Laelapidae encontradas nos diferentes biomas brasileiros. Nosso sucesso na produção de DNA barcoding para Laelapidae foi bastante similar ao sucesso descrito por Young et al. (2019a) para ordem Mesostigmata. DNA barcoding para espécies de Laelapidae é bastante raro na literatura, sendo o trabalho recentemente publicado por Young et al. (2019a) o mais relevante no tema. Acreditamos que o motivo para o baixo número de DNA barcoding produzidos são um conjunto de fatores que tornam a produção das informações bastante laborosa e em alguns casos não sucedidas. Estes fatores envolvem desde: (i) a identificação morfológica correta dos espécimes por especialistas da área para associação correta da identificação morfológica e o barcode produzido; (ii) a extração de DNA anterior a sua identificação a nível específico dos espécimes, o que implica na necessidade de ajustes de protocolos de extração de DNA não destrutivos; (iii) a baixa quantidade de DNA extraída devido ao tamanho diminuto da maioria das espécies da subclasse Acari. E por último, (iv) a baixa eficiência dos primers universais descritos na literatura, inicialmente desenvolvidos para a Classe Insecta, para as espécies dentro da subclasse Acari.

O DNA barcoding descrito aqui demonstraram-se bastante úteis para a identificação molecular das espécies, uma vez que a distância genética interespecífica variou entre 0,28 a 0,49. Essa distância genética interespecífica foi relatada por Young

et al., (2019a) e parece ser consistente na separação de espécies. No entanto, a falta de informações sobre a distância genética intraespecífica (entre indivíduos da mesma espécie) principalmente de indivíduos oriundos de diferentes regiões geográficas exige que ainda tenhamos cautela na utilização de dados de DNA barcoding para definição de espécies.

No entanto, como já sugerido anteriormente, o gene Citocromo c Oxidase subunidade I pode não ser útil na classificação e definição de parentescos dos gêneros dentro da família Laelapidae. Esse fato é devido a alta taxa de mutação desse gene entre as espécies da família Laelapidae, promovendo eventos de homoplasia nas comparações das sequências e perdendo o sinal filogenético impossibilitando inferir com precisão as relações entre as espécies (Cruickshank, 2002; Roy et al., 2010). Podemos sugerir que estudos com genes ribossomais mitocondriais como 12S e 16S e genes ribossomais nucleares como 18S e 28S como alternativas para definir as relações filogenéticas entre os gêneros de Laelapidae (Klompen et al., 2007; Sourassou et al., 2015; Santos & Tixier, 2017).

Outra questão sobre o DNA barcoding das espécies de Laelapidae foi a detecção de dois indivíduos do gênero *Gaeolaelaps* cuja as sequências foram caracterizadas como NUMTs. NUMTs são genes que possuem uma cópia duplicada e caracterizam-se como pseudogenes, ou seja, não são capazes de servir como base para a transcrição de um RNA mensageiro útil para gerar uma proteína (Hazkani-Covo, 2010). Esses genes possuem padrão de evolução completamente diferentes da sua cópia ancestral e não podem ser utilizados para estudos filogenéticos e no nosso caso para DNA barcoding (Buhay, 2009; Moulton et al., 2010). Confirmação da presença de NUMTs em Mesostigmata não foi ainda relatado na literatura e esses resultados são inéditos até onde conhecemos e demonstra a importância de uma análise detalhada das sequências antes de inclui-las como DNA barcoding para uma espécie.

#### **2.4.3 DNA barcoding de *Stratiolaelaps scimitus* e *Stratiolaelaps miles* comercializados em diferentes continentes do mundo**

Nos também produzimos DNA barcoding para espécimes de *S. scimitus* e *S. miles* oriundos de empresas que comercializam essas espécies como agentes de controle biológico de pragas. O sequenciamento apontou 100% de similaridade entre

as sequências de DNA barcoding de *S. scimitus* e *S. miles* sugerindo que os indivíduos comercializados por empresas na França e África do Sul identificadas como *S. miles* e pela PROMIP (Brasil) são exatamente a mesma espécie. Utilizando o banco de informações do estudo morfológico e molecular de espécies crípticas de *Stratiolaelaps* realizado por Walter & Campbell (2003), nós podemos sugerir que a espécie em questão é *S. scimitus* e não *S. miles*.

Essa informação é extremamente importante para o manejo das populações desses ácaros em condições de laboratório visando a produção massal, bem como, a manejo desses ácaros no campo, uma vez que a espécies *S. scimitus* parece ter uma distribuição cosmopolita mediada pelo homem. Isso também confirma a utilidade de DNA barcoding para o constante monitoramento de criações massais de ácaros, uma vez que a contaminação com reintroduções de campo pode alterar a prevalência da espécie em condições de laboratório e diminuir a eficiência de um determinado produto, previamente testado, como agente de controle biológico no campo. Além disso, a identificação correta pode facilitar o registro desses ácaros por empresas para comercialização em áreas agrícolas no Brasil, uma vez que o produto registrado na Europa e África do Sul é a mesma espécie do produto já registrado para comercialização no Brasil.

## 2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nós estudamos a diversidade de ácaros da família Laelapidae nos diferentes biomas brasileiros, representando os primeiros passos para o conhecimento destes ácaros no país. O bioma Amazônia apresentou maior diversidade e abundâncias de espécies comparado aos demais biomas brasileiros. Contudo, é necessário a continuidade de estudos para conhecimento e bioprospecção de organismos que possam ter potencial para utilização no controle biológico de pragas. O gênero *Gaeolaelaps* foi o mais comum, sendo encontrado nos biomas relatados neste estudo. A espécie *Gaeolaelaps* sp4 aparece em todos os biomas, exceto no Pampa.

Nós fomos capazes de desenvolver um processo de extração de DNA não destrutivo para ácaros e produzimos DNA barcoding para 9 espécies de ácaros da família Laelapidae. A ferramenta será extremamente útil para estudos de taxonomia integrativa na família Laelapidae. Nós reportamos a presença de NUMTs (pseudogenes) de COI para duas espécies diferentes de *Gaeolaelaps* e isso

demonstra que as sequências de Barcoding geradas em acarologia devem ser cuidadosamente analisadas.

Por fim, as espécies de *Stratiolaelaps* oriundas do Brasil (áreas nativas e comercializadas pela empresa PROMIP) e os ácaros oriundos de empresas da África do Sul e França são uma única espécie, com alta indicação de *S. scimitus*.

## REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, E. B. **Diversidade de ácaros edáficos, com ênfase nos Mesostigmata, em cultivos agrícolas e na vegetação natural do bioma Cerrado no sul do estado do Tocantins**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 57 p., 2017.
- BEAULIEU, F.; WALTER, D.E. Predation in suspended and forest floor soils: observations on Australian mesostigmatic mites. **Acarologia** v.47, p.34–54, 2007.
- BEAULIEU, F.; DOWLING, A.P.G.; KLOMPEN, H.; MORAES, G.J.; WALTER, D.E. Superordem Parasitiformes Reuter, 1909. Biodiversidade animal: Um esboço da classificação de nível superior e levantamento da riqueza taxonômica. **Zootaxa**, v.3148, p.123-128, 2011.
- BECK, L. Die Bodenfauna des Neotropischen Regenwaldes. **Atlas do Simpósio sobre a Biota Amazônica**. v.5, 1967.
- BERLESE, A. **Acari myriopoda et scorpiones, hucusque in Italia reperta: Ordo mesostigmata (Gamasidae)**. Sumptibus auctoris, 1892.
- BERLESE, A. Diagnosi di alcune nuove specie di Acari italiani mirmecofili e liberi. **Zoologischer Anzeiger**, 27, p.12–28, 1903.
- BERLESE, A. Acari nuovi. Manipulus II. **Redia**, v.1, p.258–280, 1904.
- BERLESE, A. Centuria seconda di Acari nuovi. **Redia**, v.12, p.125–177, 1916.
- BERLESE, A. Centuria quinta di Acari nuovi. **Redia**, v.14, p.143–195, 1920.
- BREGETOVA, N.G.; KOROLEVA, E.V. Mites of the genus *Oloaelaps* Berlese, 1904 (Acarina: Laelaptidae). **Parazitologicheskii Sbornik**, v22, p.61–87, 1964.
- BUHAY, J.E. “COI-like” sequences are becoming problematic in molecular systematic and DNA barcoding studies. **Journal of Crustacean Biology**, v.29, n.1, p.96-110, 2009.

- CABRERA, A. R.; CLOYD, R. A.; ZABORSKI, E. R. Development and reproduction of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) with fungus gnat larvae (Diptera: Sciaridae), potworms (Oligochaeta: Enchytraeidae) or *Sancassania* aff. *sphaerogaster* (Acari: Acaridae) as the sole food source. **Experimental & applied Applied acarology**, v. 36, p. 71-81, 2005.
- CAMPOS, C. **Diversidade Socioambiental de Roraima**. São Paulo: Instituto Socioambiental. 2. ed. v.3, p. 35, 2011.
- CASANUEVA, M.E. Phylogenetic studies of the free-living and arthropod associated Laelapidae (Acari: Mesostigmata). **Gayana Zoologica**, v. 57, p. 21-46, 1993.
- CASTILHO, R.C. MORAES, G.J., SILVA, E.S., FREIRE, R.A., DA EIRA, F.C. The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* as a control agent of the fungus gnat *Bradysia matogrossensis* in commercial production of the mushroom *Agaricus bisporus*. **International Journal of Pest Management**, v. 55, n. 3, p. 181-185, 2009.
- CASTILHO, R.C.; MORAES, G.J. de. Rhodacaridae mites (Acari: Mesostigmata: Rhodacaroidea) from the State of São Paulo, Brazil, with descriptions of a new genus and three new species. In: **International Journal of Acarology**. v.36, n.5, 2010.
- CRUICKSHANK, R.H. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. **Systematic and Applied Acarology**, v.7, n1, p. 3-14, 2002.
- DOWLING, A.P.G.; OCONNOR, B.M. Phylogenetic relationships within the suborder Dermanyssina (Acari: Parasitiformes) and a test of dermanyssoid monophyly. **International Journal of Acarology**, v.36, n.4, p.299-312, 2010.
- EVANS, G.O.; TILL, W.M. Winifred M. **Studies on the British Dermanyssidae (Acari: Mesostigmata)**. British Museum (Natural History), v.14, n.5, p.109-122, 1966.
- FRANKLIN, E.N.; GUIMARÃES, R.L.; ADIS, J.U.; SCHUBART, H.O.R. Resistência à submersão de ácaros (Acari: Oribatida) terrestres de florestas inundáveis e de terra firme na Amazônia Central em condições experimentais de laboratório. **Acta Amazonica**. Manaus: INPA. v.31, 2001.
- FRANKLIN, E.; SANTOS, E.M.R.A; ALBUQUERQUE, M.I.C. Diversity and distribution of oribatid mites (Acari: Oribatida) in a lowland rain forest in Peru and in several environments of the Brazilian States of Amazonas, Rondônia, Roraima and Pará. **Brazilian Journal of Biology**, v.66, 2006.

- FRANKLIN, E.A.; SANTOS, E.M.R.A.; ALBUQUERQUE, M.I.C.A. Edaphic and arboricolous oribatid mites (Acari; Oribatida) in tropical environments: changes in the distribution of higher level taxonomic groups in the communities of species. **Brazilian Journal of Biology**. (S. I.) Revista Brasileira de Biologia. v.67, 2007.
- FREIRE, R.A.P.; MORAES, G.J.; SILVA, E.S.; VAZ, A.C.; CASTILHO, R.C. Biological control of *Bradysia matogrossensis* (Diptera: Sciaridae) in mushroom cultivation with predatory mites. **Experimental and Applied Acarology**, v.42, 2007.
- GERSON, U.; OCHOA, R.; SMILEY, R.L. **Mites (Acari) for pest control**. Oxford: Blackwell Science, 2003.
- GILBERT, M.T.P.; MOORE, W.; MELCHIOR, L.; WOROBEY, M. DNA Extraction from Dry Museum Beetles without Conferring External Morphological Damage. **PLoS ONE**, v.2, n.3, p.e 272, 2007.
- HAZKANI-COVO E.; ZELLER RM.; MARTIN, W. Molecular Poltergeists: Mitochondrial DNA Copies (numts) in Sequenced Nuclear Genomes. **PLoS Genet** v.6, n.2, 2010.
- HEBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A., Ball, S.L., Dewaard, J.R. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London. Series B: **Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313-321, 2003.
- HOY, M. A. Integrated mite management in Washington apple orchards. Agricultural acarology: introduction to integrated mite management. **Taylor and Francis Group**, LLC, Boca Raton, FL, p. 237-242, 2011.
- HUHTA, V., Karg, W. Ten new species in genera *Hypoaspis* (s. lat.) Canestrini, 1884, *Dendrolaelaps* (s. lat.) Halbert, 1915, and *Ameroseius* Berlese, 1903 (Acari: Gamasina) from Finland. **Soil Organisms**, v. 82, n. 3, p. 325-349, 2010.
- HUNTER, P.E. Some mites of the genus *Pseudoparasitus* Oudemans, 1902 (Acarina: Laelaptidae). **Journal of the Georgia Entomological Society**, v.1, p.1–20, 1966.
- HURLBUTT, H.W. A study of soil-inhabiting mites from Connecticut apple orchards. **Journal of Economic Entomology**, v.51, p.767–772, 1958.
- JOHARCHI, O.; HALLIDAY, B. New species and new records of mites of the family Laelapidae (Acari: Mesostigmata) associated with Coleoptera in Iran. **Zootaxa**, v.2883, n.1, p.23-38, 2011.
- JOHARCHI, O.; HALLIDAY, B.; SABOORI, A. Three new species of *Laelaspis* Berlese from Iran (Acari: Laelapidae), with a review of the species occurring in the Western Palearctic **Regional Journal of Natural History**, v.46, n.32, p.1999-2018, 2012.

- KARG, W. Die Gattung *Pseudoparasitus* Oudemans, 1902. **Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin**, Berlin, v. 54, n. 2. p. 203-212, 1978.
- KARG, W. Zur Kenntnis der Raubmilbengattung Gamasina Leach. **Abhandlungen und Berichte des Naturkundemuseums Görlitz, Görlitz**, v. 69, n. 5, p. 41-45, 1997.
- KARG, W. Zur Systematik der Raubmilbenfamilien Hypoaspidae v. Vitzthum, 1941 und Rhodacaridae Oudemans, 1902 (Acarina, Parasitiformes) mit neuen Arten aus Süd- und Mittelamerika. **Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin**, Berlin, v. 76, n. 2, p. 243-262, 2000a.
- KARG, W. Neue Raubmilbenarten aus dem tropischen Regenwald von Ecuador mit einem kritischen Beitrag zur Merkmalsevolution bei Gamasina (Acarina, Parasitiformes). **Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin**, Zoologische Reihe, Berlin, v. 79, n. 2, p. 229-251, 2003a.
- KARG, W. Die Raubmilbengattungen *Afrogamasellus* Loots et Ryke und *Oloopticus* Karg mit zwei neuen Arten. Ein Beitrag zur Evolution der Bodenmilben (Acarina, Gamasina). **Abhandlungen und Berichte des Naturkundemuseums Görlitz**, v.75, n.1, p. 23-33, 2003.
- KARG, W. The systematics of Parasitiformes, especially of Gamasina Leach (Acarina), with new species from Ecuador. **Zoosystematics and Evolution**, v. 82, n. 1, p. 140-169, 2006.
- KRANTZ, G.W., WALTER, D.E. **A Manual of Acarology**. Lubbock – Texas: Texas Tech University Press, 3. ed., 2009.
- KLOMPEN, H.; LEKVEISHVILI, M.; BLACK, W.C. Phylogeny of parasitiform mites (Acari) based on Rrna. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.43, p. 936–951, 2007.
- KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular biology and evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547-1549, 2018.
- MALEKSHAH-KOOHI, S.; NEMATI, A.; AFSHARI, A. A new species of *Pseudoparasitus* Oudemans (Acari: Mesostigmata: Laelapidae) from Iran. **Journal of Crop Protection**, v. 3, n. 2, p. 255-263, 2014.
- MINEIRO, J.L.C.; MORAES, G.J. de. Gamasida (Arachnida: Acari) edáficos de Piracicaba, Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**. Londrina: Sociedade Entomológica do Brasil. v. 30, 2001.



- MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. **Holos**, 2008.
- MOREIRA, G.F. **Taxonomic Studies of Laelapid Mites (Acari: Mesostigmata: Laelapidae) and Their Use in Combination with Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) to control Frankliniella occidentalis (Thysanoptera: Thripidae)**. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 522 p., 2014.
- MOREIRA, G.F.; MORAES, G.J. The potential of free-living laelapid mites (Mesostigmata: Laelapidae) as biological control agents. In: CARILLO, D.; MORAES, G. J.; PEÑA, J. E. (Eds.). **Prospects for Biological Control of Plant Feeding Mites and other Harmful Organisms**. Springer, p.77-102, 2015.
- MOULTON, M.J.; SONG, H.; WHITING, M.F. Assessing the effects of primer specificity on eliminating numt coamplification in DNA barcoding: a case study from Orthoptera (Arthropoda: Insecta). **Molecular Ecology Resources**, v.10, n.4, p.615-627, 2010.
- NAVAJAS, M.; FENTION, B. The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. **Experimental and Applied Acarology**, v.24, p.751-774, 2000.
- NYLANDER, J.A.A. MRMODELTEST version 2.1. **Computer program distributed by the author**. Uppsala University, Uppsala. 2004.
- OLIVEIRA, A.R.; PRIETO, D.; MORAES, G.J. Some oribatid mites (Acari, Oribatida) from the State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, p. 219-224, 2001.
- OUDEMANS, A.C. New list of Dutch Acari. Second part. **Tijdschrift voor Entomologie**, v.45, p.1–52, 1902.
- RASMY, A.H.; ELBAGOURY, M.E.; REDA, A.S. A new diet for reproduction of two predaceous mites *Amblyseius gossipi* and *Agistemus exsertus* (Acari: Phytoseiidae, stigmatidae). **Entomophaga**, v. 32, n. 3, p. 277-280, 1987.
- RYKE P.A.J. The genus *Ololaelaps* Berlese (Acarina: Laelaptidae). **Revista de Biologia**, 3:124–130, 1962.
- SANTOS, E.M.R.; FRANKLIN, E.; MAGNUSSON, W.E. Cost-efficiency of Subsampling Protocols to Evaluate Oribatid-Mite Communities in an Amazonian Savanna. **Biotropica**, v. 40, n. 6, p. 728-735, 2008.

- SANTOS, J.C. **Ácaros (Arthropoda: Acari) edáficos do Estado de Alagoas, com ênfase nos Mesostigmata**. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal: FCAV/UNESP, 85p., 2013.
- SANTOS, V.V.; TIXIER, M. Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). **Cladistics**, v. 33, n. 3, p. 251-267, 2017.
- SILVA, E.S.; MORAES, G.J; KRANTZ, G.W. Diversidade de ácaros edáficos Rhodacaroidea (Acari: Mesostigmata) em ecossistemas naturais no estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 5, p. 547-555, 2004.
- WALTER, D.E.; HUNTER, H.W.; ELLIOTT, T. Guilds or functional groups? An analysis of predatory arthropods from a shortgrass steppe soil. **Pedobiologia** 31: 247–260, 1988.
- WALTER, D.; OLIVER, J.J.R. *Geolaelaps oreithyiae*, n. sp. (Acari: Laelapidae), a thelytokous predator of arthropods and nematodes, and a discussion of clonal reproduction in the Mesostigmata. **Acarologia**, v.4, p.293–303, 1989.
- WALTER, D.E.; CAMPBELL, N.J.H. Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Acari: Mesostigmata: Laelapidae), please stand up? **Biological Control**, v. 26, n. 3, p. 253-269, 2003.
- WOMERSLEY, H. On some new Acarina—Mesostigmata from Australia, New Zealand and New Guinea. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 42, n. 288, p. 505-599, 1956.
- YOUNG, M.R.; PROCTOR, H.C.; DEWAARD, J. R.; HEBERT, P.D. DNA barcodes expose unexpected diversity in Canadian mites. **Molecular ecology**, v. 28, n. 24, p. 5347-5359, 2019.



## APÊNDICES

### Apêndice A

Lista de sequências do primeiro terço do gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) amplificados para espécies da família Laelapidae para produção do DNA barcoding.

#### >RS012\_ *Pseudoparasitus* sp (669 pb)

GATATTGGTACTTTTATACTTAATTTTTGCCTCTTGAGCAGGAATTGTCGGAGTATCTTTTAG  
 AGTTTTAATTCGCATAGAGTTAAGTCAACCTGGTTCATTAATTGGTGATGACCAAATTTATA  
 ATTTAATTGTAACAGCTCACGCATTTATTATAATTTTTTTTTATGGTTATACCCGCAATAATT  
 GGCGGATTTGGAAATTGATTAACCTCCTAATACTCGGAGTCCCTGATATGGCCTTTCTCCTCG  
 AATAAACAAACATAAGATTTTGACTGCTTATTCCTTCTCTAAGACTTCTATTTATATCTTCAA  
 TAATTGAAGGAGGAGTAGGTACAGGATGAACTGTTTACCCTCCACTATCAGGAAATGTGTCA  
 CATAGAGGAGGTGCTGTTGATTTAGCTATTTTTAGACTTCATTTAGCTGGAGCTTCATCTAT  
 TTTAGGCAGAATTAATTTTATTACAACAATTATTAATATGCGTTTTTTATGCTCTTAAAATAG  
 AGCGACTTTCTTTGTTTGTGTGATCTGTTTTAATTACAACAATTTTATTAATTTTATCCTTG  
 CCTGTATTGGCTGGTGCTATTACAATACTTTTATCTGATCGAAATTTTAATACTACTTTCTT  
 TGACCCAAGGGGGGGGAGGAGATCCAGTACTTTACCAACATTTATTTTGA

#### >AM087\_ *Alloparasitus* sp (680 pb)

AAAGATATTGGAACACTATATTTTCGTATTAGGAATCTGATCCAGATTACTAGGAACTATAAG  
 AAGAATAATTATTCGAATAGAATTACTTCAACCAGGATCACTAATTA AAAATGACCAAATTT  
 ACAATTCAATTGTAACATCCCATGCATTCATCATAATTTTCTTTATGGTTATACCTATTATA  
 ATTTGGGGGTTTCGGGAATTGACTAGTCCCCATAATAATTGGGGCCCCCGATATGGCATTTC  
 ACGAATAAATAATATAAGATTCTGATTATTACCAATATCACTTACATTATTAATTTCAAGAG  
 CAATAAGAGGTACCGGGGCCGGTACAGGGTGAACCTCTCTATCCACCCCTATCATCCCAAATA  
 GCCCACTCTGGCCCTGCAGTGGATTTAACTATTTTTTCCCTTCACATTGCAGGAATCAGATC  
 TATTATAGGTGCAATTAATTTTATTTCAACAATTATAAATATACGAACACCAATAATAACCA  
 TGGAATTATGCCATTATTTTGTGCTGATCTGTTCTAATTACAGCTATCTTATTACTTTTTATCA  
 TTACCAGTACTAGCAGGTGCAATTACAATACTTTTAACTGACCGAAATTTAAATACATCATT  
 TTTTGATCCTGCAGGAGGTGGTGATCCAGTCTATTTCAACACTTGTTTTGTATTTTTTG

#### >AM068\_ *Gymnolaelaps* sp (685 pb)

AAAGATATTGGTACAATATATTTTTCTATTTGCACTATGAGCCGGAATTCTAGGCGCCTCACT  
 AAGAATAATTATTCGTATTGAATTGGCCCAACCAGGCTCTCTAATCAAAGATGATCAAATCT  
 ATAATACTTTAATCACTCTTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTCATAGTTATACCAGCAATA  
 ATTTGGAGGATTTGGTAATTGACTCACTCCATTAATACTATCGTCCCCAGATATAGCATTCCC  
 TCGATTAAACAATCTCAGATTCTGATTATTATTGCCATCAATTAGATTAATATTATTCTCAA  
 CTCTAACTGATTCAAGAATTGGCACAGGTTGAACAATTTACCCCCCTTAGCAAGCCTACCC  
 TATCATAGCGGCCCTTCTGTAGATTTATTAATTTTTAGACTGCACTTAGCAGGAGTATCCTC  
 CATCCTCGGAGCGATTAACCTTTATCACCCTATTTCATAATATACGGCCCTTTATTATAAATT  
 ATGAAAAATTACCATTATTTTTTATGATCTATTTTAACTACTACTATCCTCCTATTAATTTCC  
 CTGCCTGTTCTCGCAGGAGCAATTACTATATTATTGTCTGACCGAACTTTAATACAAGATT

TTTTGATCCTAGAGGAGGGGAGATCCAATTCTTTATCAACATCTTTTTTGATTTTTTGGTC  
ACC

**>AM088\_ *Alloparasitus* sp (677 pb)**

GATATTGGAACCTTTATATCTAATTTTTGCATCTTGAGCAGGTTAATAGGAACCTCTCTTAG  
AGTAATAATTCGATTAGAACTTAGACAACCAGGAGCATTAATCAATGACGATCAAATTTATA  
ATGTTATTGTCACCTTCTCATGCTTTTATCATAATTTTTTTTTATAGTGATAACCAGCAATAATT  
GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCCTATTTTTATTTTCATCACCTGATATATCCTTTCCACG  
TCTTAATAATTTAAGATTTTGACTTATTATTCCATCTCTTATTTTTATTAGTAACTTCAAATT  
TTATTGAAAATGGTGCAGGCACAGGATGAACTGTTTACCCTCCTCTGTCAAATAATATTAGT  
CATAGAGGACCTGCAGTAGATTTAACAATTTTTAGACTTCATATTGCAGGCATTTCTTCTAT  
CCTAAGATCTATTAATTTTTATCTCATCAATTTTTAATATACGACCTAAATCTAATTTTTTTG  
AAAATTCATCTCTTTTTATTTGATCAATTTTTATTACAACAATTCTTTTTATTATTATCTCTT  
CCAGTTTTGGCTGGAGCCATTACTATACTATTATTTGACCGAAATTTAATACATCTTTTTT  
TGATCCTAGAGGAGGAGGAGATCCTATTTTTATATCAACATTTATTTTTGATTTTTTGG

**>AM103\_ *Gaeolaelaps* sp3 (532 pb)**

TTTGTCATAATTTTTTTTTATAGTAATACCAGCTATAAATTGGAGGGTTTGGAAATTGATTAAT  
CCCTCTCCACTCCTCCTCCCCTGACCTAATTTCCCTCGATTAAATAATATAAGATTTTGAC  
TTATCATTCCCTTCAATCTCCTTTATAATTATATCTAACTTTATTGAAAGCGGAGCAGGCACA  
GGTTGAACAGTTTATCCTCCTTTAGCTAACAATATAAGCCATAGAGGGGCTGCAGTTGACAT  
TACTATTTTTAGACTTCATATTGCTGGTATTTCTTCAATTTTAAGTTCAATTAACCTTATTT  
CTACTATCATTAATCTTTCCCAAAATCATTAATATAGAAATATCTTCTCTTTTCATTTGA  
TCAATTTTTATTACAACAATTCTTCTCCTTCTCCTCCCTGTTCTAGCTGGAGCTATCAC  
TATACTTCTTTCTGACCGAAACTTTAATACTTCTTTTTTTGACCCAAGAGGAGGCGGTGACC  
CAATTTTGTACCAACACTTATTTTTGATTTTTTGGTC

**>MA003\_ *Gaeolaelaps* sp1 (473 pb)**

TGAGCTGGAATAGTGGGGACTTCTTTAAGATTTTTAGTTCGTATTGAGTTAAGACAGCCTGG  
GGTTTTTTTTAAAGGATGATCAGGCTTATAATGTTATTGTTACGTCACATGCTTTTTATTATAA  
TTTTTTTTTATGGTAATACCGGCTATAAATTGGAGGGTTTGGTAATTGATTAGTTCCTATTATG  
TTGAATTCTCCTGATATGGCTTTTCCCTCGTATAAATAATATAAGATTTTGATTATTGCCTCC  
TTCTTTGCTTTTATTAATATTTTCTTGTTTTATTGAAGGGGGTGCAGGTACAGGTTGAACTG  
TTTATCCCCCTTTGTCAGTAAGTTTATTTTCATAGAGGGTCTTCTGTGGATTTAGTTATTTTT  
AGCCTTCATTTGGCAGGCATTTCTTCTATTTTAGGGGCAATTAATTTTATTAGAACTATTAT  
TAATATGCGTCCTTTGGGGATAAAGATGGAGCAGGTTCC

**>MA001\_ *Cosmolaelaps* sp3 (475 pb)**

TGAGCTGGAATAGTGGGGACTTCTTTAAGATTTTTAGTTCGTATTGAGTTAAGACAGCCTGG  
GGTTTTTTTTAAAGGATGATCAGGCTTATAATGTTATTGTTACGTCACATGCTTTTTATTATAA  
TTTTTTTTTATGGTAATACCGGCTATAAATTGGAGGGTTTGGTAATTGATTAGTTCCTATTATG  
TTGAATTCTCCTGATATGGCTTTTCCCTCGTATAAATAATATAAGATTTTGATTATTGCCTCC  
TTCTTTGCTTTTATTAATATTTTCTTGTTTTATTGAAGGGGGTGCAGGTACAGGTTGAACTG  
TTTATCCCCCTTTGTCAGTAAGTTTATTTTCATAGAGGGTCTTCTGTGGATTTAGTTATTTTT  
AGCCTTCATTTGGCAGGCATTTCTTCTATTTTAGGGGCAATTAATTTTATTAGAACTATTAT  
TAATATGCGTCCTTTGGGGATAAAGATGGAGCAGGTTCC

AGCCTTCATTTGGCAGGCATTTCTTCTATTTTAGGGGCAATTAATTTTATTAGAACTATTAT  
TAATATGCGTCCTTTGGGGATAAAGATGGAGCAGGTTCCCTT

**>CE027\_ *Gaeolaelaps* sp2 (689 pb)**

CATAAAGATATTGGAACATTTATATCCTTTTTGCAATTTGATCCGGATTTTTTAGGAACCTC  
ACTAAGTTTTATTATCCGAACAGAATTAGGTCAACCTGGACCATTAATTGGAGATGATCAAA  
TCTACAATTCAATTGTTACTGCTCATGCTTTCGTTATAATTTTTTTTTATAGTTATAACCAGCT  
ATAATTGGAGGTTTTGGGAACTGATTAACCCCCCTTATATTATCAATTCCTGATATAGCCTT  
CCCACGAATAACAATATAAGATTTTACTTCTTGTCCCTTCTCTTTCATTACTAACATTCT  
CCTCTTTTGTGAAAGAGGTGTCGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTTTAGCAAGAACT  
ATTTCTCATAGAGGGGCGAGCAGTAGATTTAGCTATTTTTAGACTTCATTTAGCTGGTATTTT  
TTCCATTCTCGGTTCAATTAATTTTATCACTACTATTTTAAATCTTCGTAGAAAAAATTTCA  
CCTTAGAATTAATTCCTCTATTTATTTGATCAGTTTTTATCACCACAATTCCTTCTCCTTTTA  
TCCCTTCCAGTTTTAGCTGGAGCAATCACTATACTTTTAAAGTGATCGTAATTTCAATACATC  
CTTTTTTGACCCAACAGGAGGGGGAGACCCAGTTTTGTACCAACATTTATTTTGATTTTTTG  
GTCACCC

**>AM090\_ *Cosmolaelaps* sp2 (696 pb)**

AAAGATATTGGAACCTTTTACCTAATTTTTGCCGCCTGAGCAGCCATAATAGGAACAGCCCT  
CAGTATAATTATTTCGAATTGAATTAGGACAACCTGGCTCTTTTTATTGGAAATGACCAGATTT  
ATAATGTTATTGTAACCGCTCATGCCTTTGTCATAATTTTTTTTTCTAGTAATACCTGCAATA  
ATTGGAGGATTTGGTAACTGACTTGTTCCCTTTATACTATCTGCCCCTGACATAGCATTCCC  
ACGTTTAAATAATATAAGCTTCTGACTTTTAAATTCCTTCACTCTTCTCATAATCATATCTT  
CCATAGTAGAAAATGGGGCTGGAACCGGATGAACCGTATACCCCCCTTAGCTAACAAATATC  
TCTCACAGAGGGGGAGCTGTAGACTTAGCTATCTTTAGTCTGCATCTAGCCGGTATTTCCCTC  
CATCCTTGGTAGAATTAATTTTATTACTACAATTATTAATATAACGCCCTCAAATAATAAAAC  
TTGAACAAATACCTCTTTTTTGTATGATCTGTCTTAATCACTACAGTCCTCCTCCTTATCC  
CTTCCCTGTTTTAGCAGGAGCAATCACTATGCTCCTTACTGATCGTAATTTTAAACTTTCCTT  
CTTTGACCCAAGTGGGGGTGGAGATCCTATCCTTTACCAGCATCTTTTCTGATTTTTTTGGTC  
ACCCTGAAGTTTAA

**>MA008\_ *Cosmolaelaps* sp1 (575 pb)**

GATGATCAGATTTATAATTCAATTGTAACCTGCCATGCTTTTGTGATGATTTTTTTTACAGT  
TATACCGGCAATAATTGGAGGATTCGGAATTTGGTAACTCCTATAATAATTTTATGCCAG  
ATATAGCCTTTCCTCGGCTAAATAATATAAGATTTTGGTTTTTAGTGCCCTCCTTGTTTTTA  
TTAGTTTTTTTCATCGTTTGTGATACAGGGGCGGAACTGGTTGAACAGTTTATCCCCCTCT  
TTCAAGAAATTTAAGGCATAGAGGAAGGGCGGTTGATTTAGCAATTTTTAGTTTACATATTG  
CGGGGATCTCCTCAATTATAAGCTCTATTAATTTTATTGTAACATTTAATAATATACGAGCA  
AAAGAGATAGTTTTAGAGCGAGTAAGCCTCTTTATTTGAGCCATTTTGGTGACTACAGTCTT  
ACTTCTTTTGGAGACTCCCTGTTTTAGCAGGGGCAATTAATGTTATTAGTTGACCGAAATT  
TTAATACTACTTTTTTTACCCTGAAGGGGGTGGGGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTT  
TGATTTTTTTGGTCACCC

**>SSAM01\_Stratiolaelaps scimitus (565 pb)**

GGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTTCCTTTGTATTTATTGTTTAGTTTATGGGCAAGGGG  
GTTAGGAAGTGCTTTAAGGATATTGATTCGGATTGAGCTTGGACAGCCAGGAGCTTTTATTA  
ATGATGATCAAATCTATAACACTATTGTTACTTCTCATGCATTTGTTATAATTTTTTTTATA  
GTTATGCCCCGCCATAATTGGCGGATTTGGAAATTGGTTAACTCCTTTAATATTGGCAGCACC  
TGATATAGCTTTTCCTCGTTTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATTCCTTCTTTAATTA  
TATTAATTTTTTCTTCTTTTGTGAGAGAGGAGCAGGTACTGGTTGAACGGTGTATCCTCCT  
TTAGCTAGAAATATTTCTCATAGTGGGGCTTCTGTTGATCTAGCTATTTTTAGGTTACATTT  
GGCTGGGGCTTCTTCTATTTTAAGGTCTATTAATTTTATTACTACTATTTTAAATATACGTT  
CTTTTAGGATAAAAATAGAAATATTTTCTTTATTTATTTGGTCTGTGTTTATTACAACAATT  
TTATTAT

**>SSAM02\_Stratiolaelaps scimitus (565 pb)**

GGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTTCCTTTGTATTTATTGTTTAGTTTATGGGCAAGGGG  
GTTAGGAAGTGCTTTAAGGATATTGATTCGGATTGAGCTTGGACAGCCAGGAGCTTTTATTA  
ATGATGATCAAATCTATAACACTATTGTTACTTCTCATGCATTTGTTATAATTTTTTTTATA  
GTTATGCCCCGCCATAATTGGCGGATTTGGAAATTGGTTAACTCCTTTAATATTGGCAGCACC  
TGATATAGCTTTTCCTCGTTTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATTCCTTCTTTAATTA  
TATTAATTTTTTCTTCTTTTGTGAGAGAGGAGCAGGTACTGGTTGAACGGTGTATCCTCCT  
TTAGCTAGAAATATTTCTCATAGTGGGGCTTCTGTTGATCTAGCTATTTTTAGGTTACATTT  
GGCTGGGGCTTCTTCTATTTTAAGGTCTATTAATTTTATTACTACTATTTTAAATATACGTT  
CTTTTAGGATAAAAATAGAAATATTTTCTTTATTTATTTGGTCTGTGTTTATTACAACAATT  
TTATTAT

## Apêndice B

Lista de sequências do primeiro terço do gene citocromo c oxidase subunidade I (COI) amplificados para três espécies da família Laelapidae que apresentaram sinais de presença de NUMTs.

### >AM003\_ *Gaeolaelaps* sp1 (522 pb)

AATCAAAATAAATGTTGGTATAAACTGGGTCTCCCCCTCCTGTTGGGTCAAAAAAGGATGT  
 ATTGAAATTACGATCACTTAAAAGTATAGTGATTGCTCCAGCTAAAAGTGAAGGGATAAAA  
 GGAGAAGAATTGTGGTGATAAAACTGATCAAATAAATAGAGGAATTAATTCTAAGGTGAAA  
 TTTTTTCTACGAAGATTTAAAATAGTAGTGATAAAATTAATTGAACCGAGAATGGAAGAAAT  
 ACCAGCTAAATGAAGTCTAAAATAGCTAAATCTACTGCTGCCCTCTATGAGAAATAGTTC  
 TTGCTAAAGGAGGGTAAACTGTTTCATCCTGTTCCGACACCTCTTTCAACAAAAGAGGAGAAT  
 GTTAGTAATGAAAGAGAAGGGACAAGAAGTCAAAATCTTATATTGTTTATTCGTGGGAAGGC  
 TATATCAGGAATTGATAATATAAGGGGGGTAAATCAGTTCCCAAACCTCCAATTATAGCTG  
 GTATAACTATAAAAAAATTATAACG

### >AM012\_ *Gaeolaelaps* sp2 (675 pb)

TGAGTGCTCAGAGAAGGTGAAAAGCCTGTGTGGTTGTGCTAACCTATTGAACCGTGACACTG  
 AAGAGTCTAGTTGTTTGAGAGTACAACCTTAAAGCTGGTGGTAAATTTTCATCAAAGGCTAAAT  
 ATATGAGGGGACTAATAGCGAACAAGTACCATGAGGGAAAGTTGAAAAGAAGTCTGACGAGA  
 GAGTTCAACAGTACGTGAAACCATATTGAGTAAAACAGATAACTGTGTTGTTATGTGGTGTG  
 CCTATCAACAGTCTATTTGGTGTGTGATGCTACGAGTGTAGGCTGTCTATTCAGCTGATTG  
 CTCGTGGTTAGCATAGCCAGAGATTCTGTGCACTAGTGCACACTCAATCATTGAGAACTAT  
 GCTACCGCGGCATCGGTGTGCAACAGTCCGTACCTAGTGCAGTGTGCATGCTGGGCTCAAC  
 TGGTCGGCGTAGTTTGTGCTGTGACAGCTGTGGGCTGCGTTTATCAAAGGTGGCTGCTGTA  
 TCTGCGAACTGGTTTATTCCTTTTTGCGGTGAGCATGTTGCTGTAGGTAAGCGGCTCGCCAT  
 CAATGGTTAACATTAGTTATTTGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTTCAAATGGCAC  
 GCGAGTCATTGGGTTTTGACACCCGAAGGCGAAGTGAA



## Apêndice C

Lista da de sequências do primeiro terço do gene Citocromo c Oxidase Subunidade I (COI) amplificados para *Stratiolaelaps scimitus* e *Stratiolaelaps miles* oriundos de diferentes regiões do mundo.

### >SSSP01\_ *Stratiolaelaps scimitus* (679 pb)

GGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTTCCTTTGTATTTATTGTTTAGTTTATGGGCAAGGGG  
 GTTAGGAAGTGCTTTAAGGATATTGATTCGGATTGAGCTTGGACAGCCAGGAGCTTTTATTA  
 ATGATGATCAAATCTATAACACTATTGTTACTTCTCATGCATTTGTTATAATTTTTTTTATA  
 GTTATGCCCCGCCATAATTGGCGGATTTGGAAATTGGTTAACTCCTTTAATATTGGCAGCACC  
 TGATATAGCTTTTCCTCGTTTTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATTCCTTCTTTAATTA  
 TATTAATTTTTTCTTCTTTTGTGAGAGAGGAGCAGGTAAGTGGTTGAACGGTGTATCCTCCT  
 TTAGCTAGAAATATTTCTCATAGTGGGGCTTCTGTTGATCTAGCTATTTTTAGGTTACATTT  
 GGCTGGGGCTTCTTCTATTTTTAAGGTCTATTAATTTTTATTACTACTATTTTTAAATATACGTT  
 CTTTTAGGATAAAAATAGAAATATTTTTCTTTATTTATTTGGTCTGTGTTTATTACAACAATT  
 TTATTATTATTGTCTTTGCCAGTTTTAGCAGGGGCTATTACTATATTATTAATAGATCGAAA  
 TTTTAATACTTCTTTTTTTTTGACCCTAGAGGGGGAGGAGATCCTATTTTTGTATCAACAT

### >SSSP02\_ *Stratiolaelaps scimitus* (679 pb)

GGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTTCCTTTGTATTTATTGTTTAGTTTATGGGCAAGGGG  
 GTTAGGAAGTGCTTTAAGGATATTGATTCGGATTGAGCTTGGACAGCCAGGAGCTTTTATTA  
 ATGATGATCAAATCTATAACACTATTGTTACTTCTCATGCATTTGTTATAATTTTTTTTATA  
 GTTATGCCCCGCCATAATTGGCGGATTTGGAAATTGGTTAACTCCTTTAATATTGGCAGCACC  
 TGATATAGCTTTTCCTCGTTTTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATTCCTTCTTTAATTA  
 TATTAATTTTTTCTTCTTTTGTGAGAGAGGAGCAGGTAAGTGGTTGAACGGTGTATCCTCCT  
 TTAGCTAGAAATATTTCTCATAGTGGGGCTTCTGTTGATCTAGCTATTTTTAGGTTACATTT  
 GGCTGGGGCTTCTTCTATTTTTAAGGTCTATTAATTTTTATTACTACTATTTTTAAATATACGTT  
 CTTTTAGGATAAAAATAGAAATATTTTTCTTTATTTATTTGGTCTGTGTTTATTACAACAATT  
 TTATTATTATTGTCTTTGCCAGTTTTAGCAGGGGCTATTACTATATTATTAATAGATCGAAA  
 TTTTAATACTTCTTTTTTTTTGACCCTAGAGGGGGAGGAGATCCTATTTTTGTATCAACAT

### >SMAF01\_ *Stratiolaelaps miles* (519 pb)

GGGTCAACAAATCATAAAGATATTGGTTCCTTTGTATTTATTGTTTAGTTTATGGGCAAGGGG  
 GTTAGGAAGTGCTTTAAGGATATTGATTCGGATTGAGCTTGGACAGCCAGGAGCTTTTATTA  
 ATGATGATCAAATCTATAACACTATTGTTACTTCTCATGCATTTGTTATAATTTTTTTTATA  
 GTTATGCCCCGCCATAATTGGCGGATTTGGAAATTGGTTAACTCCTTTAATATTGGCAGCACC  
 TGATATAGCTTTTCCTCGTTTTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATTCCTTCTTTAATTA  
 TATTAATTTTTTCTTCTTTTGTGAGAGAGGAGCAGGTAAGTGGTTGAACGGTGTATCCTCCT  
 TTAGCTAGAAATATTTCTCATAGTGGGGCTTCTGTTGATCTAGCTATTTTTAGGTTACATTT  
 GGCTGGGGCTTCTTCTATTTTTAAGGTCTATTAATTTTTATTACTACTATTTTTAAATATACGTT  
 CTTTTAGGATAAAAATAGAAATA

**>SMAF02\_Stratiolaelaps miles (507 pb)**

CATAAAGATATTGGTTCTTTGTATTTATTGTTTAGTTTATGGGCAAGGGGGTTAGGAAGTGC  
TTTAAGGATATTGATTCGGATTGAGCTTGGACAGCCAGGAGCTTTTATTAATGATGATCAAA  
TCTATAACACTATTGTTACTTCTCATGCATTTGTTATAATTTTTTTTATAGTTATGCCCGCC  
ATAATTGGCGGATTTGGAAATTGGTTAACTCCTTTAATATTGGCAGCACCTGATATAGCTTT  
TCCTCGTTTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATTCCTTCTTTAATTATATTAATTTTTT  
CTTCTTTTGTGAGAGAGGAGCAGGTACTGGTTGAACGGTGTATCCTCCTTTAGCTAGAAAT  
ATTTCTCATAGTGGGGCTTCTGTTGATCTAGCTATTTTATAGTTACATTTGGCTGGGGCTTC  
TTCTATTTTAAGGTCTATTAATTTTATTACTACTATTTTAAATATACGTTCTTTTAGGATAA  
AAATAGAAATA