

**Biologia, ecologia e taxonomia molecular de *Mansonia*
(*Mansonia*) Blanchard, 1901 (Diptera: Culicidae)**

Jandui Almeida Amorim

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências.**

Área de Concentração: Saúde Pública

Orientadora: Profa. Dra. Maria Anice Mureb Sallum

Versão original

São Paulo

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Amorim, Jandui

Biologia, ecologia e taxonomia molecular de *Mansonia* (*Mansonia*) Blanchard, 1901 (Diptera: Culicidae) / Jandui Amorim; orientadora Maria Anice Mureb Sallum. -- São Paulo, 2023.
161 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2023.

1. Ecologia. 2. Entomologia médica. 3. Controle de Vetores. 4. Taxonomia. 5. Código de barras do DNA. I. Mureb Sallum, Maria Anice, orient. II. Título.

*À minha mãe, Gina, e ao meu
pai, Jandui, cujos carinho,
dedicação e apoio foram
imprescindíveis para a minha
formação humana e
profissional.
Com amor.*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maria Anice Mureb Sallum, por ter me dado a oportunidade de realizar o presente trabalho de pesquisa sob a sua honrosa orientação, guiando com a sua valiosa experiência meu aprofundamento no estudo dos culicídeos.

Aos funcionários do Posto Avançado da FSP em Pariqueira-Açu, Luiz Carlos de Oliveira, Rui Lima e Jair Donizete, que, além de auxiliar nas coletas de culicídeos, sempre pacientes e solícitos, me ensinaram muito sobre o trabalho de campo.

Ao Caio Moreira à Me. Denise Sant'Anna, pelo suporte às atividades de laboratório.

À Dra. Tatiane Marques Porangaba de Oliveira, pelo suporte às atividades de bancada no laboratório de biologia molecular.

À Dra. Ivy Luizi Rodrigues de Sá e à Dra. Marcia Bicudo de Paula, pelo suporte no estudo da taxonomia e identificação de culicídeos.

Aos colegas estudantes da Faculdade de Saúde Pública, Sandra Nagaki, Bruna Demari-Silva, Vanessa Gusmon, Mariana Dantas, Martha Rojas, Leonardo Chaves (*in memoriam*) e Marcely George, pelas discussões sobre entomologia, pelas dúvidas tiradas, artigos disponibilizados e apoio moral.

Ao Dr. Diego Alonso, ao Me. Marcus Alvarez e ao Dr. Paulo Ribolla, pelo suporte no estudo de técnicas sequenciamento de DNA e bioinformática.

À Prof. Dra. Paula Prist pelo suporte na utilização de ferramentas de geoprocessamento.

Ao Prof. Dr. Mario Navarro da Silva e ao Me. Nicholas Thrun pelo apoio logístico, operacional e laboratorial durante as coletas realizadas em Curitiba.

Ao Dr. Roger Hutchings e à Dra. Rosa Hutchings por viabilizarem meu acesso aos mosquitos depositados na Coleção de Invertebrados do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Ao biólogo Noel Santos Neto pelo apoio logístico e operacional durante as coletas realizadas em Porto Velho.

Ao Sr. Bento Pereira da Silva e sua família, pela amizade, hospitalidade e apoio logístico durante as coletas realizadas em Jaci-Paraná.

Ao CNPq, pela concessão de reserva técnica (no. 301877/2016-5) fundamental para as atividades de laboratório.

À Santo Antônio Energia, pelo custeio das atividades de campo, aquisição de insumos/equipamentos de laboratório e pagamento de serviços de sequenciamento por meio do projeto “Biomonitoramento e controle integrado de macrófitas e mosquitos do gênero *Mansonia* (Diptera: Culicidae) em uma região associada a um lago de usina hidrelétrica” (ANEEL CT.PD.124.2018).

Ao Dr. J. Rodolfo Lima, fraterno amigo de longa caminhada e admirável interlocutor para os mais diversos assuntos da biologia.

Finalmente, agradeço à minha família, minha namorada Carol e demais amigos, por me apoiarem e terem sido compreensivos em relação à minha quase constante ausência ao longo desses últimos anos para realizar a pesquisa.

Minha sincera gratidão a todos!

Resumo

Amorim JA. Biologia, ecologia e taxonomia molecular de *Mansonia* (*Mansonia*) Blanchard, 1901 (Diptera: Culicidae) [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução – As fêmeas do gênero *Mansonia* Blanchard, 1901 depositam seus ovos na face inferior das folhas de plantas aquáticas presentes em coleções de água doce. Após a eclosão, as larvas e, depois, as pupas se mantêm fixadas aos tecidos submersos das plantas. Assim que emergem, as fêmeas adultas hematófagas buscam, voraz e agressivamente, vertebrados que possam lhes servir como fontes de repasto sanguíneo. Esse comportamento pode prejudicar severamente a Saúde Pública e a economia em áreas com altas densidades populacionais de *Mansonia* spp. Para além do incômodo causado pelas picadas, algumas espécies transmitem patógenos aos humanos em certas regiões geográficas. Para que sejam eficazes, as medidas de monitoramento e controle das populações de *Mansonia* spp. devem ser planejadas com base na biologia de cada espécie e seus padrões de interação com fatores bióticos e abióticos nos ecossistemas. Dessa forma, a identificação acurada dos exemplares coletados em pesquisas de campo é fundamental, mas é dificultada pelos padrões de heteromorfismo intraespecífico e isomorfismo interespecífico historicamente observados. **Objetivo** – Adquirir conhecimentos inéditos para o planejamento de ações de monitoramento e controle populacional de *Mansonia* (*Mansonia*) spp. **Métodos** – Realizaram-se: ampla revisão bibliográfica narrativa; coletas de espécimes imaturos e adultos em três regiões do Brasil; identificação morfológica das amostras em nível específico; sequenciamento da região código de barras do gene mitocondrial codificador da subunidade I da enzima oxidase do citocromo c (*COI*); e análise das sequências por meio de cinco métodos diferentes, baseados em distâncias genéticas estimadas com o modelo Kimura dois-parâmetros (Neighbor joining, ABGD, ASAP e RESL) e em inferência filogenética de máxima verossimilhança (mPTP). **Resultados** – Os conteúdos bibliográficos examinados foram enfeixados em um único manuscrito que apresenta, em síntese, dados de *Mansonia* spp. sobre desenvolvimento, interações com hospedeiros, padrões alimentares, importância epidemiológica e adaptabilidade a ambientes antropogênicos, entre outros. A

análise das amostras de imaturos do lago da Usina Hidrelétrica Santo Antônio revela evidências de alternância na associação com as diferentes espécies de macrófitas do local e o registro inédito de larvas de *Mansonia humeralis* associadas às raízes de *Limnobium laevigatum*. Trezentas e vinte e sete novas sequências da região código de barras do gene *COI* foram geradas a partir de exemplares de *Mansonia* (*Mansonia*) spp. A identificação baseada na morfologia apontou oito espécies na amostra de culicídeos. Os resultados dos cinco métodos implementados para a segregação das sequências em unidades taxonômicas operacionais (UTOs) foram majoritariamente congruentes. Os padrões de polimorfismo das sequências permitiram distinguir as oito espécies, corroborando a prévia identificação morfológica. No entanto, há evidências de que ao menos três dos táxons morfológicamente definidos podem representar complexos de espécies taxonomicamente desconhecidas. Foram obtidos os primeiros registros da região código de barras do gene *COI* para *Mansonia fonsecai*, *Mansonia iguassuensis* e *Mansonia pseudotitillans*. **Conclusões** – A reunião de informações referenciadas no manuscrito resultante da revisão bibliográfica facilitará a consulta para pesquisas futuras. A publicação dos dados inéditos sobre taxonomia molecular e associação com macrófitas aquáticas beneficiará o planejamento para o monitoramento e controle populacional de *Mansonia* spp.

Descritores: Ecologia; Controle de Vetores de Doenças; Biologia Molecular; Código de Barras de DNA Taxonômico; Mosquitos Vetores; Arboviroses; Filariose; Represas; Lagos Artificiais; Centrais Hidrelétricas.

Abstract

Amorim JA. Biology, ecology and molecular taxonomy of *Mansonia* (*Mansonia*) Blanchard, 1901 (Diptera: Culicidae) [thesis]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2023.

Introduction – Females of the genus *Mansonia* Blanchard, 1901 lay their eggs on the underside of aquatic plant leaves in freshwater collections. After hatching, the larvae and later the pupae remain attached to the submerged plant tissues. As soon as they emerge, the hematophagous adult females search, voraciously and aggressively, for vertebrate sources of blood meal. In areas with high population densities of *Mansonia* spp. this behavior can severely harm Public Health and economics. In addition to the nuisance caused by bites, some species transmit pathogens to humans in certain geographic regions. To be effective, *Mansonia* spp. monitoring and control should be planned on the basis of the biology each species and its patterns of interaction with biotic and abiotic factors. Therefore, accurate field-collected specimens identification is essential, but it is hampered by historically observed patterns of intraspecific heteromorphism and interspecific isomorphism. **Objective** – To acquire unprecedented knowledge for planning actions to monitor and control population of *Mansonia* (*Mansonia*) spp. **Methods** – The following activities were carried out: a broad narrative bibliographical review; collections of immature and adult specimens in three Brazilian regions; morphological identification of samples at the species level; cytochrome c oxidase subunit I (*COI*) mitochondrial gene barcode region sequencing; and sequence analysis using five different methods, based on Kimura two-parameter genetic distances (Neighbor joining, ABGD, ASAP and RESL) and maximum likelihood phylogenetic inference (mPTP). **Results** – The bibliographic contents examined were assembled into a single manuscript that summarizes data on *Mansonia* spp. development, hosts, feeding patterns, epidemiological importance and adaptability to anthropogenic environments, among others. The analysis of immature samples from the Santo Antônio Hydroelectric Power Plant dam shows evidence of alternation in the attachment to host plant species and the unprecedented record of *Mansonia humeralis* larvae attached to *Limnobium laevigatum* roots. Three hundred and twenty-seven new *COI* barcode

sequences were generated from *Mansonia* (*Mansonia*) spp. specimens. Morphology-based identification found eight species in the sample. The results for sequence segregation into operational taxonomic units (OTUs) were mostly congruent among five analysis methods. Sequence polymorphism patterns allowed the identification of eight species, corroborating the previous morphological identification. However, there is evidence that at least three of the morphology-based taxa may represent taxonomically unknown species complexes. The first records of *COI* barcodes for *Mansonia fonsecai*, *Mansonia iguassuensis* and *Mansonia pseudotitillans* were obtained. **Conclusions** – The referenced information gathered into the resulting manuscript from bibliographic review will contribute to future research. The publication of unprecedented data on molecular taxonomy and attachment to aquatic macrophytes will benefit the planning for *Mansonia* spp. monitoring and population control.

Descriptors: Ecology; Vector Control of Diseases; Molecular Biology; DNA Barcoding, Taxonomic; Mosquito Vectors; Arboviruses; Filariasis; Dams; Impoundments; Hydroelectric Power Plants (Environmental Health).