

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS**  
**ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS**  
**CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**THAÍS MELO BENCHIMOL**

**AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE *Mansonia humeralis* DYAR &  
KNAB, 1916 (DIPTERA: CULICIDAE) FRENTE A DIFERENTES FONTES  
SANGUÍNEAS**

**MANAUS – AM**

**2019**

**THAÍS MELO BENCHIMOL**

**AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE *Mansonia humeralis* DYAR & KNAB, 1916 (DIPTERA: CULICIDAE) FRENTE A DIFERENTES FONTES SANGUÍNEAS**

Monografia apresentada como pré-requisito para conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Amazonas – UEA.

Orientadora Prof<sup>a</sup> Dra. Cristina Motta Buhrnheim

**MANAUS – AM**

**2019**

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
**Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.**

B457a    Benchimol, Thaís Melo  
          Avaliação da preferência alimentar de *Mansonia humeralis* Dyar & Knab, 1916 (Diptera: Culicidae) frente a diferentes fontes sanguíneas / Thaís Melo Benchimol.  
Manaus : [s.n], 2019.  
          30 f.: color.; 30 cm.

          TCC - Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura  
          - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2019.  
          Inclui bibliografia  
          Orientador: Buhrnheim, Cristina Motta  
          Coorientador: Roque, Rosemary Aparecida

          1. Diptera. 2. Mosquitos. 3. Hematofagia. I.  
          Buhrnheim, Cristina Motta (Orient.). II. Roque, Rosemary  
          Aparecida (Coorient.). III. Universidade do Estado do  
          Amazonas. IV. Avaliação da preferência alimentar de  
          *Mansonia humeralis* Dyar & Knab, 1916 (Diptera:  
          Culicidae) frente a diferentes fontes sanguíneas



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS - UEA  
ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS  
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO FINAL DO TCC IV (NOTA DA AP1)

ALUNO: THAIS MELO BENOHIMOL  
TÍTULO DO TCC: AVALIAÇÃO DA PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE MUNSONIA  
HUMFRANS DYAR & KNAB, 1916 FAVOR A DIFERENTES FONTES  
SANGÜÍNEAS

AVALIAÇÃO DA BANCA AVALIADORA

BANCA EXAMINADORA	NOTAS ATRIBUÍDAS
a) Professor orientador:	9,5
b) 1º avaliador(a):	9,3
c) 2º avaliador(a):	9,6
MÉDIA DA NOTA (a+b+c)/3	9,5

MÉDIA DA NOTA: 9,5

Manaus, 28 de NOVEMBRO de 2019

ASSINATURA DOS MEMBROS DA BANCA AVALIADORA

Jarmay Roque  
Orientador(a)

Jeanine Augusto de S. Ferreira  
1º Avaliador(a)

[Assinatura]  
2º Avaliador(a)

À minha mãe e ao meu gato Baltazar Roberto  
(*in memoriam*) com todo o meu amor,

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Cristina Buhnheim, pelos ensinamentos, pela motivação e por acreditar em mim e em meu trabalho.

Ao Msc Francisco Augusto Ferreira por sempre ter me apoiado durante este trabalho, desde o projeto até a apresentação final.

À toda equipe do Laboratório de Malária e Dengue do INPA, pelo espaço concedido para realização dos experimentos, ensinamentos, apoio, momentos de alegria e amizade.

À minha mãe e aos meus familiares mais próximos, pelos sacrifícios feitos em prol de me oferecer oportunidade de ter uma educação de qualidade, por me impulsionar a conquistar um espaço no mundo e por principalmente fazerem dos meus sonhos, os deles.

Ao meu gato Baltazar Roberto (*in memoriam*) por ter estado ao meu lado durante toda minha graduação, que infelizmente não está mais presente nesta dimensão para comemorar mais vitórias comigo.

Ao meu namorado Kelvin Lee por ter me ajudado bastante durante boa parte da minha graduação, ajudas com exercícios, resenhas e até mesmo dando uma palavra de apoio e incentivo quando eu achava que nada daria certo.

Ao amigos que conquistei durante a graduação, obrigada pelo apoio e pelas ajudas em diversas disciplinas.

Ao Msc André Oliveira, pela disponibilidade em ajudar nas análises estatísticas do trabalho.

E a todos que participaram dessa minha jornada, pelos ensinamentos, puxões de orelha ou até mesmo aqueles que se lembraram de mim em suas preces, muito obrigada!

*“Nolite te bastardes carborundorum”*

*Margareth Atwood*

## RESUMO

Os mosquitos da espécie *Mansonia humeralis* apresentam acentuada zoofilia e antropofilia e hábitos noturnos. As fêmeas possuem comportamento agressivo e voraz durante a hematofagia, tornando-se um enorme incômodo para humanos e animais quando em grande número. Estudos referentes ao comportamento hematofágico, com variações no método de oferta e de diferentes fontes sanguíneas são necessários para contribuir na elaboração de uma metodologia de manutenção destes mosquitos em laboratório. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a preferência alimentar de *Ma. humeralis* frente a diferentes fontes sanguíneas em condições de laboratório. Três fontes sanguíneas foram ofertadas: *Mesocricetus auratus*, *Gallus gallus domesticus* e *Bos taurus*. Nas análises de variância houveram diferenças altamente significativas ( $p= 0,0001$ ) relacionadas a quantidade de sangue ingerido, considerando as três fontes sanguíneas testadas, porém *Gallus gallus domesticus* apresentou a maior média de quantidade de sangue ingerido por fonte sanguínea (0,0256 g). Quanto ao número de ovos obtidos (número total e número de ovos viáveis e inviáveis) também houve diferenças significativas ( $p=0,0001$ ), considerando as três fontes sanguíneas, entretanto *Mesocricetus auratus* apresentou o resultado mais satisfatório quanto a obtenção de ovos sendo produzidos 1001 ovos ao decorrer do experimento (incluindo viáveis e inviáveis). Este estudo contribui com a metodologia de criação desses mosquitos em laboratório e viabilizará diversos testes que serão fundamentais no controle desta espécie na região amazônica, implicando na melhoria da qualidade de vida de populações expostas a picadas destes mosquitos.

**Palavras-chave:** Diptera, mosquitos, hematofagia.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo biológico de <i>Mansonia</i> spp. Conforme Stephen (2002) e Ferreira (2018).....	13
<b>Figura 2.</b> Mosquito adulto de <i>Mansonia humeralis</i> .....	14
<b>Figura 3.</b> Área de coleta de <i>Mansonia humeralis</i> destacado em amarelo .....	17
<b>Figura 4.</b> Aspirador entomológico elétrico utilizado na coleta de de <i>Mansonia humeralis</i> .....	17
<b>Figura 5.</b> Material de identificação de <i>Mansonia humeralis</i> : estereomicroscópio, capturador de Castro e copos parafinados coberto com tule .....	18
<b>Figura 6.</b> Alimentação sanguínea com as diferentes fontes. A: <i>Mesocricetus auratus</i> (hamster), B: <i>Gallus gallus domesticus</i> (galinha), C: <i>Bos taurus</i> (gado bovino).....	19
<b>Figura 7.</b> Esquema de testes com fontes sanguíneas: <i>Mesocricetus auratus</i> (hamster), <i>Gallus gallus domesticus</i> (galinha) e <i>Bos taurus</i> (gado bovino).....	19
<b>Figura 8.</b> Espécimes de <i>Mansonia humeralis</i> em <i>knock down</i> .....	20
<b>Figura 9.</b> Desova obtida de <i>Mansonia humeralis</i> (A) e ovos observados de <i>Mansonia humeralis</i> em estereomicroscópio (B) .....	21
<b>Figura 10.</b> Ovos inviáveis de <i>Mansonia humeralis</i> .....	21
<b>Figura 11.</b> Quantidade de sangue ingerido por fêmeas de <i>Mansonia humeralis</i> por fonte sanguínea. ....	22
<b>Figura 12.</b> Quantidade média de sangue ingerido por fêmeas de <i>Mansonia humeralis</i> por fonte sanguínea .....	23
<b>Figura 13.</b> Quantidade de ovos de <i>Mansonia humeralis</i> produzidos por fonte sanguínea.....	24
<b>Figura 14.</b> Quantidade de ovos viáveis de <i>Mansonia humeralis</i> por fonte sanguínea.....	25
<b>Figura 15.</b> Quantidade de ovos inviáveis de <i>Mansonia humeralis</i> por fonte sanguínea.....	25

## SUMÁRIO

<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1. Aspectos gerais .....	11
1.2. O gênero <i>Mansonia</i> Blanchard, 1901 .....	12
1.3. <i>Mansonia humeralis</i> Dyar & Knab, 1916 .....	14
<b>2- OBJETIVOS</b> .....	16
2.1. Objetivo geral .....	16
2.2. Objetivos específicos .....	16
<b>3- MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
3.1. Área de Coleta .....	16
3.2. Coleta de <i>Mansonia humeralis</i> .....	17
3.3. Identificação da espécie .....	18
3.4. Testes com Fontes Sanguíneas.....	18
3.5. Quantidade de Sangue Ingerido.....	19
3.6. Número de ovos produzidos.....	20
3.7. Número de ovos viáveis e inviáveis .....	21
3.8. Análise de dados .....	22
<b>4- RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	22
4.1. Quantidade de Sangue Ingerido.....	22
4.2. Número de ovos produzidos.....	24
4.3. Número de ovos viáveis e inviáveis .....	24
<b>5- CONCLUSÃO</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Aspectos gerais

Os mosquitos são insetos numerosos e cosmopolitas, pertencentes à família Culicidae, à ordem Diptera e ao filo Arthropoda, também conhecidos popularmente como pernilongos, muriçocas e carapanãs. Algumas espécies atuam na transmissão de patógenos que podem causar doenças no homem e em animais domésticos, tais como arboviroses e filarioses (RAFAEL *et al.* 2012; NEVES, 2016).

Atualmente existem cerca de 3.500 espécies de culicídeos no mundo, distribuídas em 95 gêneros. A região Neotropical possui a maior parte de espécies endêmicas, sendo que 27% de culicídeos são endêmicos nesta região (FORATTINI, 2002; RUEDA, 2008). Essa família pode ainda ser subdividida em três subfamílias: Toxorhynchitinae, Anophelinae e Culicinae. A subfamília Toxorhynchitinae é representada por mosquitos do gênero *Toxorhynchites* Theobald, 1901 que são os únicos da família Culicidae onde as fêmeas não precisam do repasto sanguíneo para a maturação dos ovos, alimentando-se somente de néctar (STEFFAN & EVENHUIS, 1981).

A subfamília Culicinae é a maior deste táxon, representada por diversos gêneros, dentre eles *Aedes* Meigen, 1818, *Culex* Linnaeus, 1758 e *Mansonia* Blanchard, 1901. Já a subfamília Anophelinae tem como principais representantes mosquitos do gênero *Anopheles* Meigen, 1818. Culicinae e Anophelinae são subfamílias onde encontram-se espécies de importância médica, uma vez que as fêmeas são hematófagas, ou seja, realizam a alimentação sanguínea e são vetores de diversas doenças (CONSOLI E LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994).

Na subfamília Culicinae estão inclusas as tribos Aedeomyiini, Aedini, Culicini, Culisetini, Ficalbiini, Hodgesiini, Mansoniini, Orthopodomyiini, Sabethini e Uranotaeniini (HARBACH & KITCHING, 1998). A tribo Mansoniini é composta por dois gêneros: *Mansonia* Blanchard, 1901 e *Coquillettidia* Dyar, 1905. As larvas dos mosquitos desta tribo possuem válvulas presentes no sifão respiratório adaptadas para perfurar o aerênquima de plantas aquáticas e a partir disso obter oxigênio para sua respiração (SERVICE, 1996). Já nas pupas, as suas trompas respiratórias são adaptadas para a obtenção de oxigênio (BELKIN *et al.* 1970).

## 1.2. O gênero *Mansonia* Blanchard, 1901

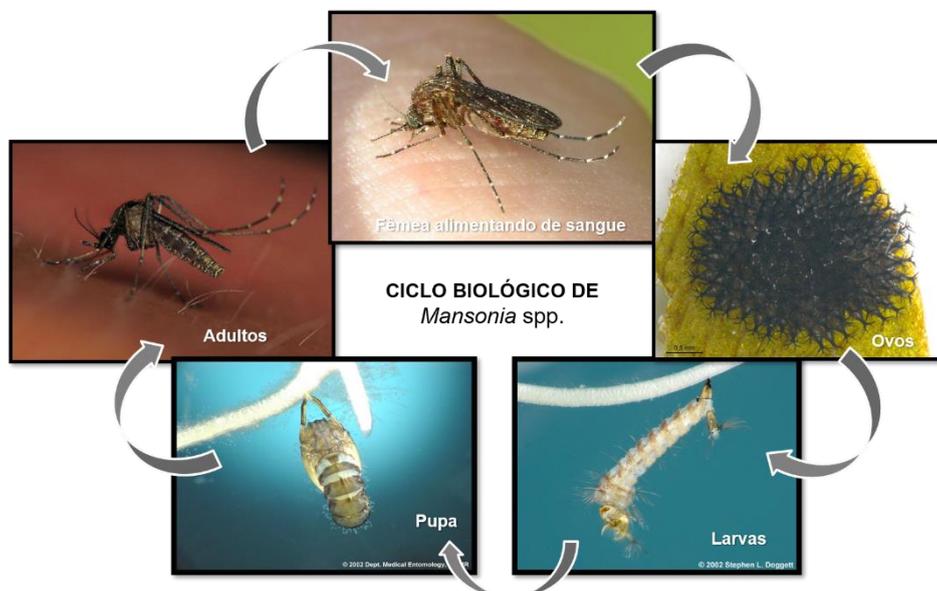
O gênero *Mansonia* é constituído por dois subgêneros: *Mansonioides* e *Mansonia*. O subgênero *Mansonioides* Theobald, 1907 compreende, na sua maioria, espécies oriundas da região oriental e duas espécies da região etiópica (RONDEROS & BACHMANN, 1963) e o subgênero *Mansonia* é constituído por espécies que estão distribuídas ao longo da região neotropical sendo que algumas delas podem alcançar o extremo sul da região neártica (GUIMARÃES, 1997; FORATTINI, 2002; BARBOSA *et al.* 2005).

Estes mosquitos são de porte médio a grande, possuem as asas compostas por escamas claras e escuras (salpicadas), assimétricas e largas. Nos adultos, os palpos maxilares das fêmeas são curtos e não chega a ultrapassar do comprimento da probóscide e, nos machos, são longos e as antenas são plumosas. Outra característica morfológica relevante neste grupo é o abdômen com a extremidade distal truncada, diferenciando este grupo dos demais culicídeos (FORATTINI, 2002; BARBOSA *et al.* 2005).

Assim como os demais integrantes da ordem Diptera o ciclo de desenvolvimento destes mosquitos é holometábolo, composto pelas fases de ovo, quatro instares larvais (L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto (figura 1). As fêmeas, depois de fertilizadas, depositam os ovos na região abaxial do limbo foliar de macrófitas aquáticas. Após a eclosão dos ovos, as larvas de primeiro instar possuem vida livre por ainda não ter as válvulas do sifão respiratório desenvolvidas o suficiente para serem acopladas no aerênquima das plantas. Somente a partir do segundo instar as larvas estão aptas a extrair oxigênio de macrófitas, perfurando o aerênquima por meio do sifão (FORATTINI, 1965; RAJENDRAN *et al.* 1989; CONSOLI E LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; FERREIRA, 1999).

Os espécimes adultos de *Mansonia* spp. costumam serem encontrados em áreas de mata ou até mesmo de pastagens, desde que se tenha a presença de animais. Apresentam acentuada zoofilia e antropofilia e hábitos noturnos e crepusculares, onde o período de maior atividade é no final da tarde e início da noite (COSTA LIMA, 1929; CONSOLI E LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994; NAVARRO-SILVA *et al.* 2004; TISSOT & NAVARRO-SILVA, 2004).

Figura 1. Ciclo biológico de *Mansonia* spp. conforme Stephen (2002) e Ferreira (2018).



Na Amazônia esses mosquitos ocorrem principalmente no ambiente de várzea, associado a águas brancas ricas em nutrientes e sedimentos (JUNK, 1973; TADEI *et al.* 1991). Estas áreas apresentam períodos com inundações, durante a cheia dos rios, e períodos de não inundação, durante a seca (FERREIRA, 1994; FERREIRA *et al.* 2003). Trata-se de uma área de transição entre o rio e a floresta, muito utilizada pelos povos da Amazônia para práticas agrícolas e criação de animais.

As fêmeas possuem comportamento agressivo e voraz durante a hematofagia e têm elevada capacidade de dispersão, tornando-se um enorme incômodo para humanos e animais quando em grande número (RUSSEL, 1999; FORATTINI, 2002, KENGNE *et al.* 2003). Em virtude do comportamento hematofágico, algumas espécies atuam como vetores de arboviroses em seres humanos e outros animais (KARABATSOS, 1985).

Dentre as arboviroses transmitidas por estes mosquitos, pode-se citar: a Encefalite Equina do Leste, na América Central (GONZALEZ *et al.* 1985, 1989); a Encefalite Equina Venezuelana e a Encefalite Equina do Oeste, na América do Sul. Tratam-se de doenças de alta taxa de morbidade em humanos causando infecções no sistema nervoso central e letal em cavalos. Quanto às espécies identificadas como vetores dessas arboviroses destacam-se *Mansonia titillans* (Walker, 1848) e *Mansonia humeralis* Dyar & Knab, 1916 (MITCHELL *et al.* 1987; TURELL, 1999).

A capacidade vetora de espécies de *Mansonia* no Brasil ainda é pouco estudada. Não há registros de espécies em solo brasileiro que fazem parte do ciclo de transmissão de arboviroses (PAULA *et al.* 2012).

### 1.3. *Mansonia humeralis* Dyar & Knab, 1916

Os mosquitos da espécie *Mansonia humeralis* Dyar & Knab, 1916 (figura 2), possuem larga ocorrência na região Amazônica, que apesar de ser considerada uma espécie silvestre pode se abrigar em áreas peri-urbanas que tenham condições favoráveis para sua sobrevivência (FORATTINI, 1965; 2002).

Figura 2. Mosquito adulto de *Mansonia humeralis*.



Assim como demais espécies de *Mansonia* spp., *Ma. humeralis* é considerado um indicador de ambientes antropicamente alterado. A densidade das populações destes mosquitos aumenta em demasia em ambientes impactados pelo homem, como em áreas sob a influência de hidrelétricas, causando problemas sociais, de saúde e até mesmo econômicos (TADEI *et al.* 1991; QUINTERO *et al.* 1996, TADEI, 1996). Foi observado o aumento da densidade de *Ma. humeralis* na Represa Taquaruçu, estado do Paraná, região sul do país. Devido ao alagamento de vastas áreas e posterior crescimento populacional de macrófitas do gênero *Eichhornia*, tornando o ambiente propício para o ciclo de vida desta espécie (TUBAKI *et al.* 1999).

Na Amazônia, a reprodução acelerada de *Ma. humeralis* foi observada na área sob a influência da Usina Hidrelétrica de Tucuruí, no estado do Pará. Estudos

realizados por Tadei e colaboradores (1991; 1996), observaram um predomínio de mosquitos do gênero *Anopheles* logo após a etapa de enchimento da barragem e, após a proliferação de macrófitas, os mosquitos *Mansonia* dominaram o ambiente, fato observado nos anos posteriores ao enchimento.

Diante da reprodução descontrolada de *Mansonia* em áreas alteradas, sobremaneira de *Ma. humeralis* associada à capacidade de transmitir arbovirose ao homem, faz-se necessário entender aspectos relacionados ao comportamento hematofágico desta espécie. Além disso, estudos referentes ao comportamento hematofágico, com variações no método de oferta e de diferentes fontes sanguíneas são necessários para contribuir na elaboração de uma metodologia de manutenção de *Ma. humeralis* em ambiente de laboratório. Uma vez estabelecida, a colônia irá viabilizar testes com inseticidas e biolarvicidas para fins de análises de susceptibilidade. Essas atividades são cruciais na elaboração de eficientes estratégias de controle desta espécie na Amazônia e extra Amazônia, especialmente em áreas sob a influência de hidrelétricas, com alta densidade desta espécie implicando na melhoria da qualidade de vida das populações ribeirinhas, expostas a intensa e sucessivas picadas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliou-se a preferência alimentar de *Mansonia humeralis* frente a diferentes fontes sanguíneas em condições de laboratório.

### **2.2. Objetivos específicos**

1. Estimou-se a quantidade de sangue ingerido por *Mansonia humeralis* frente a três tipos de fontes sanguíneas;
2. Quantificou-se o número de ovos produzidos pelas fêmeas alimentadas a partir de três fontes sanguíneas;
3. Analisou-se o número de ovos viáveis e inviáveis provenientes das posturas das fêmeas alimentadas a partir de três fontes sanguíneas.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

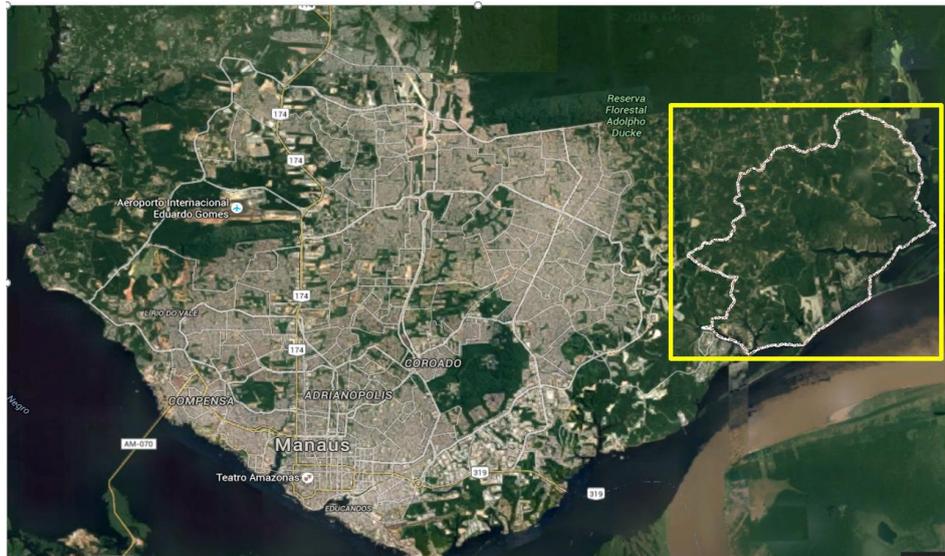
### **3.1. Área de Coleta**

A cidade de Manaus, capital do estado do Amazonas, ocupa uma área de 11.401 km<sup>2</sup>. Sua população atual é de aproximadamente 1.800.000 pessoas, de acordo com dados do último censo populacional feito pelo IBGE (2010). Devido a isso, Manaus é considerada a maior cidade da Região Norte do Brasil, sendo o sétimo município mais populoso do Brasil (IBGE, 2010).

Além disso, Manaus possui uma vegetação densa e acaba sendo influenciada pela Floresta Amazônica. Possui o relevo caracterizado por planícies, igapós e baixos planaltos, a cidade também está localizada na área de encontro dos rios Negro e Solimões, fatores estes que faz com que tenha um grande potencial de biodiversidade, o que inclui muitas espécies de insetos da família culicidae (BARBOSA *et al.* 2008).

Os espécimes de *Mansonia humeralis* utilizados neste estudo foram coletados na área peri-urbana de Manaus. Os pontos de amostragem de adultos estão localizados na zona leste da cidade de Manaus (03°02'09.5"S 59°52'15.5"W), área com intensa atividade agrícola e agropecuária (figura 3).

Figura 3. Área de coleta de *Mansonia humeralis* destacado em amarelo.



Fonte: Google Earth, 2019.

### 3.2. Coleta de *Mansonia humeralis*

Os espécimes utilizados no experimento foram coletados por meio de aspirador entomológico elétrico (figura 4). A captura foi realizada entre 18:00 e 22:00 por técnicos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA (Licença SISBIO nº 58855). Os mosquitos capturados foram acondicionados em copos parafinados, cobertos com tule e ligas de borracha. Posteriormente, foram armazenados e transportados um total de 20 fêmeas em cada copo ao Laboratório de Malária e Dengue do INPA, para identificação em nível específico.

Figura 4. Aspirador entomológico elétrico utilizado na coleta de *Mansonia humeralis*.



### 3.3. Identificação da espécie

Os espécimes coletados em campo foram transportados para o Laboratório de Malária e Dengue do INPA (LMD-INPA) objetivando a identificação de *Mansonia humeralis*. Para isso, fêmeas foram mantidas em capturador de Castro e observadas em estereomicroscópio (figura 5), desta os caracteres morfológicos foram analisados com o auxílio de chaves dicotômicas de Forattini (2002) e Assumpção (2009).

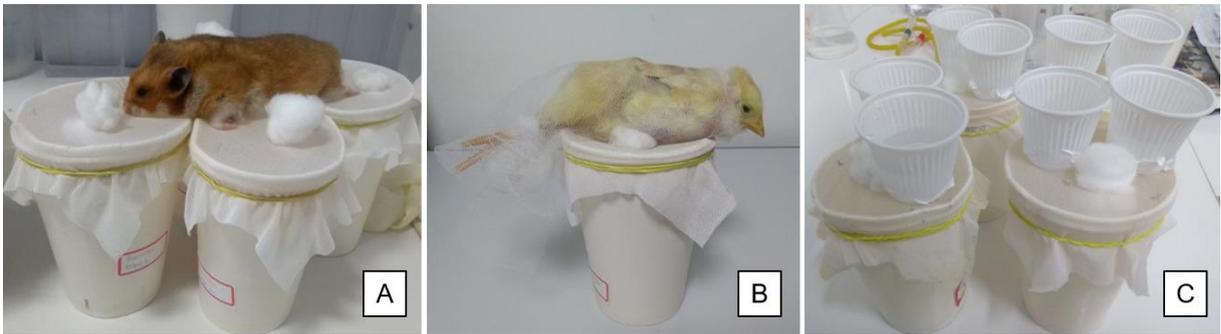
Figura 5. Material de identificação de *Mansonia humeralis*: estereomicroscópio, capturador de castro e copos parafinados cobertos com tule.



### 3.4. Testes com Fontes Sanguíneas

Após a identificação de *Mansonia humeralis* as mesmas foram distribuídas para os testes, seguindo o número de 20 fêmeas por copo. Onde foram utilizadas três diferentes fontes sanguíneas na alimentação: *Mesocricetus auratus* - hamster, *Bos taurus* - gado bovino e *Gallus gallus domesticus* - galinha (figura 6). Para a realização dos testes de alimentação utilizando hamster e galinhas jovens (que foram criadas no LMD-INPA), os animais foram devidamente sedados de maneira prévia, seguindo todas as recomendações previstas junto ao comitê de ética do INPA. As amostras sanguíneas de bovinos coletadas previamente em abatedouro - alimentação artificial adaptada por Siria *et al.* (2018).

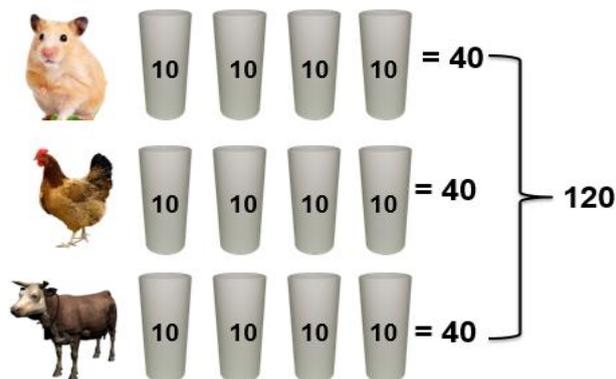
Figura 6. Alimentação sanguínea com as diferentes fontes. A: *Mesocricetus auratus* (hamster), B: *Gallus gallus domesticus* (galinha). e C: *Bos taurus* (gado bovino).



Fonte: BENCHIMOL, T. M. 2018; 2019.

Para cada tipo de fonte sanguínea foram utilizadas 40 fêmeas distribuídas em quatro copos parafinados e telados (10 fêmeas por copo), totalizando 120 fêmeas observadas no estudo, de modo que a fonte sanguínea foi oferecida pelo período de 20 minutos (figura 7). O presente estudo foi submetido para avaliação ao Comitê de Ética e Experimentação Animal do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – CEUA (CEUA 058/2018).

Figura 7. Esquema de testes com fontes sanguíneas *Mesocricetus auratus* (hamster), *Gallus gallus domesticus* (galinha) e *Bos taurus* (gado bovino).



### 3.5. Quantidade de Sangue Ingerido

Para estimar a quantidade de sangue ingerido os copos contendo as fêmeas de *Mansonia humeralis* foram colocados no freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  por noventa segundos para o *knock down* (figura 8) dos espécimes utilizados, antes de ser oferecida a alimentação sanguínea. Em seguida as fêmeas de cada copo foram pesadas sobre

papel alumínio em balança de precisão e posteriormente, foi feita a média do peso de *Mansonia humeralis* sem a alimentação sanguínea.

Figura 8. Espécimes de *Mansonia humeralis* em *knock down*.

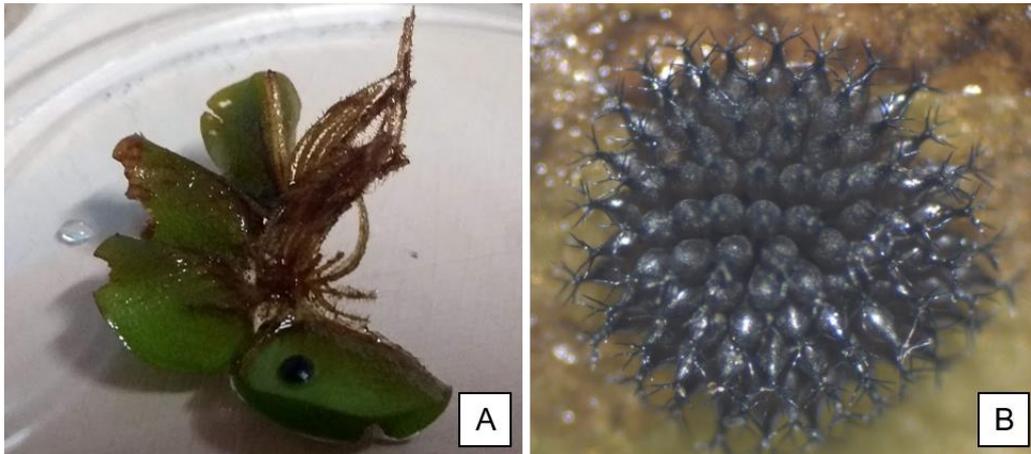


Posteriormente, as fêmeas foram colocadas em temperatura ambiente para despertarem após o choque térmico e alimentadas a partir das três fontes sanguíneas. Após a alimentação, as fêmeas passaram pelo mesmo processo e foi feita a média do peso das fêmeas alimentadas. Mediante a estes processos foi realizada a estimativa de sangue ingerido.

### 3.6. Número de ovos produzidos

Após o repasto e a pesagem dos espécimes, as mesmas foram individualizadas em copos de polietileno (50 ml), em temperatura ambiente, contendo água destilada e macrófita aquática para a obtenção das posturas (LOUNIBOS, 1987). As posturas obtidas foram fotografadas em estéreomicroscópio com o auxílio do software AxioVision Microscopy by Zeiss® para a obtenção da quantidade de ovos produzidos (figura 9).

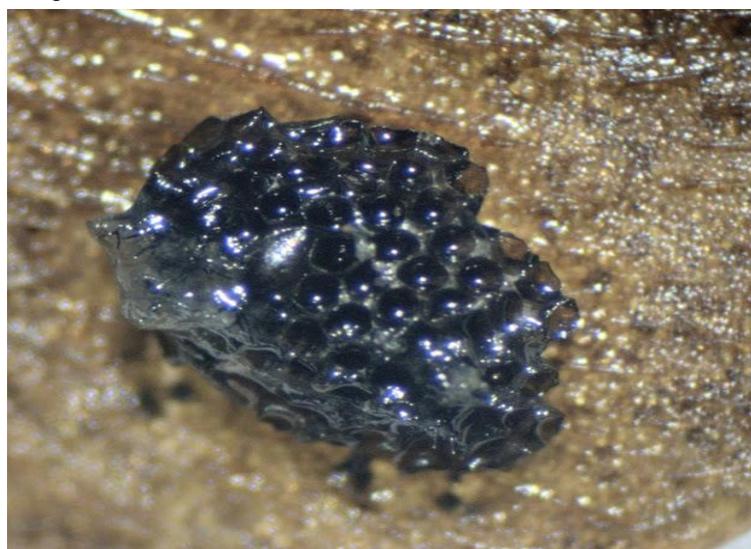
Figura 9. Desova obtida de *Mansonia humeralis* (A) e ovos de *Mansonia humeralis* observados em estereomicroscópio (B).



### 3.7. Número de ovos viáveis e inviáveis

Após a contagem do total de ovos produzidos, as posturas obtidas foram transferidas para recipientes maiores para a eclosão dos ovos. Depois de três a quatro dias as posturas foram analisadas para a contagem de ovos inviáveis (figura 10), ou seja, aqueles que não eclodiram. A contagem de ovos inviáveis também foi feita com o auxílio do software AxioVision Microscopy by Zeiss®. A partir do número total de ovos e com a subtração do número de ovos inviáveis, foi possível estimar a quantidade de ovos viáveis (ovos que eclodiram). As larvas provenientes deste experimento foram implementadas na colônia de *Mansonia* spp. em laboratório, no qual faz parte de um projeto paralelo a este.

Figura 10. Ovos inviáveis de *Mansonia humeralis*.



### 3.8. Análise de dados

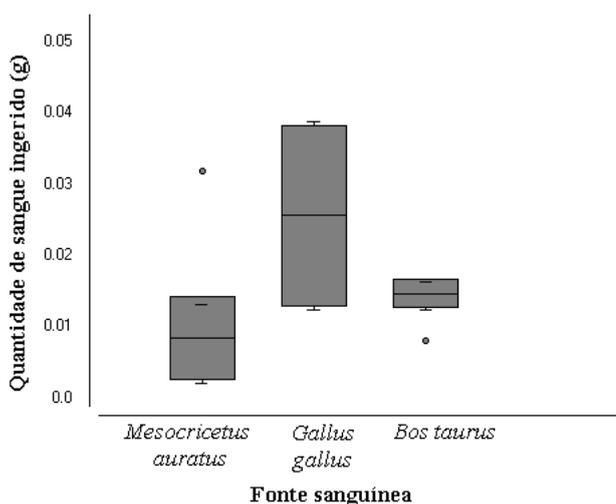
As quantidades de sangue ingerido, ovos produzidos e ovos viáveis e inviáveis foram submetidas a análise de variância – ANOVA para avaliar possíveis diferenças entre os indivíduos alimentados com diferentes fontes sanguíneas. Após isto, foram submetidos a Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) com nível de significância de 95%. Os programas estatísticos GraphicPad Prism versão 6.0 e BioEstat 5.3 foram utilizados para a execução das análises.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Quantidade de sangue ingerido

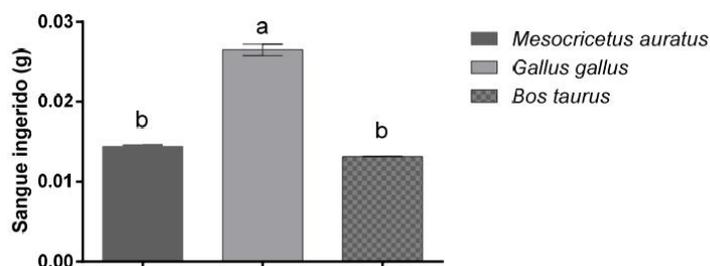
A partir dos resultados da pesagem com e sem alimentação sanguínea, foi possível estimar a quantidade total (figura 11) e a média de sangue ingerido por fonte sanguínea.

Figura 11. Quantidade de sangue ingerido por fêmeas de *Mansonia humeralis* por fonte sanguínea.



Na alimentação com *Mesocricetus auratus* a média de sangue ingerido foi 0,0143g. Em *Gallus gallus domesticus* obteve-se a média de 0,0256g e *Bos Taurus* com 0,0131g (figura 12).

Figura 12. Quantidade média de sangue ingerido por fêmeas de *Mansonia humeralis* por fonte sanguínea.



*Gallus gallus domesticus* apresentou a maior média de quantidade de sangue ingerido por fonte sanguínea. Este resultado corrobora com estudos de Alencar e colaboradores (2005), que observaram padrões alimentares de mosquitos no pantanal mato-grossense, onde constatou que espécimes de *Ma. humeralis* coletados para análises com testes sorológicos apresentaram uma acentuada ornitofilia, sendo o maior percentual de repasto com sangue de aves (29,4%).

Já *Bos taurus* demonstrou a menor média de sangue ingerido com 0,0131g, aproximadamente metade do valor da maior média de sangue ingerido deste experimento. Forattini (1987) realizou estudos sobre preferência alimentar em São Paulo considerando diversas espécies da família Culicidae. Neste, constatou que o gênero *Aedes* têm preferência por mamíferos e a espécie *Aedes scapularis* mostrou preferência por mamíferos de grande porte (equinos e bovinos).

Estes resultados mostram que o sangue bovino pode ser um meio de alimentação de fêmeas de mosquitos, porém neste estudo o sangue bovino ofertado não foi bem aceito pelas fêmeas de *Ma. humeralis*, acredita-se que este fato esteja relacionado a alimentação ser do tipo artificial e as fêmeas não estavam estimuladas a realizar o repasto sanguíneo.

O dióxido de carbono emitido é um estimulante em potencial para as fêmeas de mosquitos, pois elas possuem receptores que fazem o CO<sub>2</sub> induzir respostas para guiar a fêmea até a fonte sanguínea desejada (GILLIES, 1980). Acredita-se que as fêmeas de *Ma. humeralis* se sentiram mais induzidas a realizar a hematofagia nos espécimes de *Mesocricetus auratus* e *Gallus gallus domesticus* ofertados, pois os mesmos estavam sedados e emitiam dióxido de carbono.

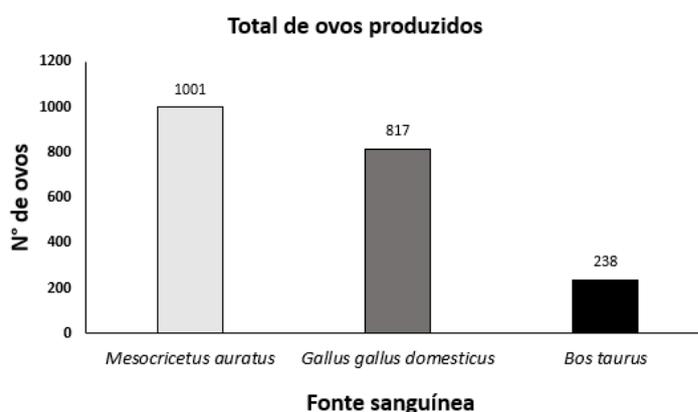
Na análise de variância (ANOVA) houveram diferenças altamente significativas relacionadas a quantidade de sangue ingerido, considerando as três fontes

sanguíneas testadas, sendo  $p=0,0001$ .

## 4.2. Número de ovos produzidos

Quanto ao total de ovos produzidos por fonte sanguínea *Mesocricetus auratus*, *Gallus gallus domesticus* e *Bos taurus* contabilizaram o total de 1001, 817 e 238 ovos respectivamente (figura 13).

Figura 13. Quantidade de ovos produzidos ingerido por fêmeas de *Mansonia humeralis* por fonte sanguínea.



Apesar de *Gallus gallus domesticus* ter mostrado um maior resultado na ingestão sanguínea, *Mesocricetus auratus* apresentou o maior número total de ovos (incluindo viáveis e inviáveis).

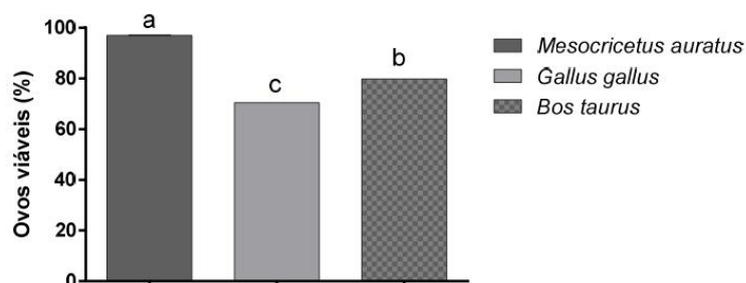
Na análise de variancia houveram diferenças entre as médias do número de ovos obtidos, considerando as três fontes sanguíneas.  $p= <0,0001$ .

## 4.3. Número de ovos viáveis e inviáveis

Após a contabilização do número total de ovos, as posturas foram colocadas em recipientes maiores para a eclosão. A partir da eclosão das larvas que foi possível obter o número de ovos viáveis e inviáveis.

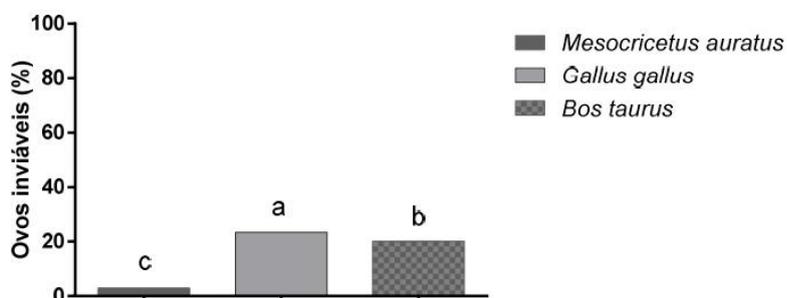
Os ovos viáveis são ovos que originaram larvas, tratam-se de ovos que eclodiram. Foram quantificados 971 ovos viáveis em posturas oriundas do repasto com *Mesocricetus auratus*, 634 em *Gallus gallus domesticus* e 190 em *Bos Taurus*. Sendo que *Mesocricetus auratus* apresentou o maior percentual de eclosão de ovos, cerca de 93% (figura 14).

Figura 14. Quantidade de ovos viáveis de *Mansonia humeralis* por fonte sanguínea.



Na análise de variância foram observadas diferenças significativas entre as médias de ovos viáveis, considerando as três fontes sanguíneas testadas.  $p=0,0001$  ou  $p<0,05$ . Os ovos inviáveis (ovos que não eclodiram) foram quantificados após o período de eclosão das larvas, cerca de três a quatro dias. *Mesocricetus auratus* apresentou o menor percentual de ovos inviáveis (30), já *Gallus gallus domesticus* mostrou o maior número de ovos inviáveis (183) e *Bos Taurus* 48 ovos (figura 15).

Figura 15. Quantidade de ovos inviáveis de *Mansonia humeralis* por fonte sanguínea.



Na análise de variância foram observadas diferenças significativas entre as médias de ovos inviáveis, considerando as três fontes sanguíneas testadas.  $p=0,0001$  ou  $p<0,05$ . Os resultados apresentaram diferença significativa entre médias de sangue ingerido e ovos viáveis e inviáveis, o que comprova que de fato *Mansonia humeralis* é uma espécie de hábitos zoofílicos no geral e apresenta acentuada ornitofilia (CONSOLI e LOURENÇO-de-OLIVEIRA 1994; FERREIRA 1999; ALENCAR, 2005).

Apesar disso, a fonte sanguínea *Mesocricetus auratus* apresentou os melhores resultados em quantidade de ovos viáveis e inviáveis, uma vez que um ovo viável

posteriormente torna-se um mosquito e para uma colônia em ambiente de laboratório, quantos mais espécimes, mais chances de estudos serem desenvolvidos com os mesmo. *Mesocricetus auratus* também é uma espécie fácil de ser manipulada e sedada em laboratório, é de fácil acesso e logística, pois os mesmos são criados no Biotério Central do INPA.

## 5. CONCLUSÃO

Este estudo possibilitou o entendimento de aspectos relacionados ao comportamento hematofágico de *Mansonia humeralis*, bem como demonstrou que trata-se de uma espécie de comportamento zoofílico e com acentuada ornitofilia, o que reforça a importância do estudo de hábitos alimentares desta espécie, já que possui um potencial vetorial no ciclo de transmissão de arboviroses.

A fonte de sangue hamster (*Mesocricetus auratus*) foi a mais satisfatória neste estudo, uma vez que neste obteve-se o maior número de ovos que posteriormente originaram larvas (viáveis), além do fato desta espécie já ser criada no Biotério Central do INPA.

Esta observação contribui com a metodologia de criação desses mosquitos em laboratório e viabilizará diversos testes que serão fundamentais no controle desta espécie na região amazônica, inclusive em áreas sob influências de hidrelétricas, onde há uma alta densidade desta espécie. Isto implicará na melhoria da qualidade de vida de populações expostas a picadas destes mosquitos.

## REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.; LOROSA, E.S.; SILVA, J.S.; LOPES, C.M.; GUIMARÃES, A.E.; Observações sobre padrões alimentares de mosquitos (Diptera: culicidae) no Pantanal mato-grossense. **Neotropical Entomology**, v. 34(4), 681-687p, 2005.

ASSUMPÇÃO, I.C.; Chave de identificação pictórica para o subgênero *Mansonia* Blanchard, 1901 (DIPTERA, CULICIDAE) da região Neotropical. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.[Orientadores: Dr. Mario Antônio Navarro da Silva e Dr. Jonny Edward Duque Luna]. Disponível em: <<https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/31613/Monografia%20Isabe%20Cristina%20de%20Assumpcao.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 20 set. 2019.

BARBOSA, A.A., NAVARRO-SILVA, M.A. & SALLUM, M.A. Description and revalidation of *Mansonia (Mansonia) fonsecai* (Pinto) (Diptera: Culicidae). **Zootaxa**, v. 905, 1-11p. 2005.

BARBOSA, M.G.V.; FÉ, N.F.; MARCIÃO, A.H.R.; SILVA, A.P.T.; MONTEIRO, W.M.; GUERRA, M.V.F.; GUERRA, J.A.O.; Registro de Culicidae de importância epidemiológica na área rural de Manaus, Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41(6), 658-663p, 2008.

BELKIN J.N., HEINEMANN, S.J. & PAGE, W.A. Mosquito Studies (Diptera: Culicidae). XXI. The Culicidae of Jamaica. **Contributions of the American Entomological**. v. 6, 1-458p. 1970.

CONSOLI, R.A.G.B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1994. 228 pp.

COSTA LIMA, A.M. Sobre algumas espécies de *Mansonia* encontradas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.12, 297-300p. 1929.

FERREIRA, R.L.M. *Aspectos Biológicos de Mansonia Blanchard. 1901 (Diptera: Culicidae) da ilha da Marchantaria, no Solimões, Amazonas*. 1994. 108 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 1994. [Orientador: José Alberto Sampaio Nunes de Mello de Mestrado].

FERREIRA, R.L.M; Densidade de oviposição, e quantificação de larvas e pupas de

*Mansonia* Blanchard, 1901 (Diptera: Culicidae), em *Eichhornia crassipes* Solms. e *Pistia stratiotes* Linn. na Ilha da Marchantaria, Amazônia Central. **Acta Amazônica**. vol. 29(1). 123-134p. 1999.

FERREIRA, R.L.M.; PEREIRA, E.S.; HAR, N.T.F.; HAMADA, N; *Mansonia* spp. (Diptera: Culicidae) associated with two species of macrophytes in a Varzea lake, Amazonas, Brazil. **Entomotropica**. v.18(1). 21-25p. 2003.

FORATTINI, O.P. **Entomologia Médica. Vol. 3. Culicini:** Haernagogus, Mansonia, Culiseta, Sabcthini, Toxorhynchitini, Arboviruses, Filariose bancroftiana, Genética. Universidade de São Paulo, 1965. 416 pp.

FORATTINI, O.P. Preferências alimentares de mosquitos culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, n. 3, 171-187p, 1987.

FORATTINI, O.P. **Culicidologia médica: Identificação, biologia e epidemiologia.** Vol. 2, EDUSP, São Paulo, 2002. 864 pp.

GILLIES, M.T.; The role of carbon dioxide in host-finding by mosquitoes (Diptera:culicidae): a review. **Bulletin of Entomological Research**, v. 70, 525-532p, 1980.

GONZÁLEZ, O.F.; RYBA J.; NEGRIN E.M. Contribución al conocimiento de la entomofauna de culicidos de la Isla de la Juventude. **Revista Cubana de Medicina Tropical**. v. 37, 22-5p,1985.

GONZÁLEZ, O.F.; RODRIGUEZ, M.C.; MENDOZA, J.L.; NEGRIN, E.M. Distribución de las principales especies de culicidos de importancia medica en la Isla de la Juventude. **Revista Cubana de Medicina Tropical**. v. 41, 1989.

GUIMARÃES, J.H. **Systematic Database of Diptera of the Americas South of the United States (Family CULICIDAE).** São Paulo: Editora Plêiade, 1997. 286 pp.

HARBACH, R. E. & KITCHING, J. **Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera).** Systematic Entomology, v. 23 (4), 327-370p. 1998.

IBGE. **Censo demográfico de Manaus.** 2010. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/am/manaus/panorama>>. Acesso em: 24 set. 2019.

JUNK, W.F.; Investigations on the ecology and production-biology of the “floating meadows” (*Paspalo-Echinochloetum*) on the middle Amazon). Part II. The aquatic

fauna in the root zone of floating vegetation. **Amazoniana**, vol. 4, 9-102p, 1973.

KARABATSOS, N.; International catalogue of arbovirus including certain other viruses of vertebrates, 4th ed., **American Society of Tropical Medicine and Hygiene San Antonio, Texas**. 1985.

KENGNE, I.M.; BRISSAUD, F.; AKOA, A.; ETEME, R.A.; NYA, J., NDIKEFOR, A.; FONKOU, T. Mosquito development in a macrophyte-based wastewater treatment plant in Cameroon (Central Africa). **Ecological Engineering**, vol 21. 53-61p, 2003.

LOUNIBOS, L.P.; LINLEY, J.R. A quantitative analysis of underwater oviposition by the mosquito *Mansonia titillans*. **Physiological Entomology**, v. 12, 435-443p, 1987.

MITCHELL, C.J.; MONATH, T.P.; SABATTINI, M.S. *et al.* Arbovirus isolations from mosquitoes collected during and after the 1982-1983 epizootic of Western Equine Encephalitis in Argentina. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 36, 107-13p. 1987.

NAVARRO-SILVA, M.A.; BARBOSA, A.A.; CALADO, D. Atividade de *Mansonia* spp. (Mansoniini, Culicidae) em fragmento florestal na área urbana de Curitiba, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. Vol. 21 (2), p. 243-247. 2004.

NEVES, D.P. **Parasitologia humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016. 616 pp.

PAULA, M.B.; GOMES, A.C.; NATAL, D.; DUARTE, A.M.R.C.; MUCCI, L.F.; Effects of Artificial Flooding for Hydroelectric Development on the Population of *Mansonia humeralis* (Diptera: Culicidae) in the Parana River, São Paulo, Brazil. **Journal of Tropical Medicine**, 6pp, 2012.

QUINTERO, L.O.; DUTATY THATCHER, B.; TADEI, W.P.; The Biology of Amazonian Anophelines an Evaluation of the Occurrence of Species of Anopheles, and Other Culicids at the Balbina Hydroelectric Dam - Five Years After the Filling of the Reservoir. **Acta Amazônica**. v. 26(4). 281-296p. 1996.

RAFAEL, J.A.; MELO, G.A.R.; CARVALHO, C.J.B.; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. 1.ed. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2012. 810 pp.

RAJENDRAN, G.; KRISHNAMOORTHY, S.; SABESAN; PANICKER, K. N. Attachment behaviour of immatures of *Mansonia annulifera* (Theobald). **Indian Journal of Medical Research**. v. 89, 192-197p, 1989.

- RONDEROS, R.A. & BACHMANN, A.O. *Mansoniini Neotropicales (Diptera-Culicidae)*. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 26 (1-4): 57-65p. 1963.
- RUEDA, L. M. Global diversity of mosquitoes (Insecta: Diptera: Culicidae) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, 477-487p, 2008.
- RUSSEL, R.C. Constructed wetlands and mosquitoes: Health hazards and management options-An Australian perspective. **Ecological Engineering**. v. 12, 107-124p, 1999.
- SERVICE, M.W. **Medical entomology for students**. London, Chapman & Hall, 1996, 278 pp.
- SIRIA, D.J.; BATISTA, E.P.A.; OPYIO, M.A.; MELO, E.F.; SUMAYE, R.D.; NGOWO, H.S.; EIRAS, A.E.; OKUMU, F.O. Evaluation of a simple polytetrafluoroethylene (PTFE)-based membrane for blood-feeding of malaria and dengue fever vectors in the laboratory. **Parasites & Vectors**, v. 11:236. 2018.
- STEFFAN, W.A.; EVENHUIS, N.L.; **Biology of Toxorhynchites**. **Annual Review of Entomology**. v. 26, 159-81p, 1981.
- TADEI, W.P.; SCARPASSA, V.M.; RODRIGUES, I.B.; Evolução das populações de *Anopheles* e de *Mansonia*, na área de influência da Usina Hidrelétrica de Tucuruí (Pará). **Ciência e Cultura**. v. 43 (7), 639-640p, 1991.
- TADEI, W.P. *et al.* O gênero *Mansonia* (Diptera: Culicidae) e a proliferação de mosquitos na usina hidrelétrica de Tucuruí. In: **Energia na Amazônia**, v. 1, 311–318p, 1996.
- TISSOT, A.C; NAVARRO-SILVA, M.A.; Preferência por hospedeiro e estratificação de Culicidae (Diptera) em área de remanescente florestal do Parque Regional do Iguaçu, Curitiba,Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 21(4), 877-886p, 2004.
- TUBAKI, R.M.; HASHIMOTO, S.; DOMINGOS, M.F.; BERENSTEIN, S. Abundance and frequency of culicids, emphasizing anophelines (Diptera, Culicidae), at Taquaruçu dam in the Paranapanema basin, southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 43, 173-84p, 1999.
- TURELL, M.J. Vector competence of three Venezuelan mosquitoes (Diptera: Culicidae) for an epizootic IC strain of Venezuelan Equine Encephalitis Virus. **Journal of Medical Entomology**. v. 36: 407-9p, 1999.