

## ESTUDO SOBRE RELAÇÃO ENTRE VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS E ANTROPOFILIA EM POPULAÇÕES DE *Simulium* sp. (DIPTERA, SIMULIIDAE)

MATEUS MILANI<sup>1</sup>

Trabalho da Disciplina BE-300 Controle Biológico / 2009.

Instituto de Biologia – Dep. de Biologia Celular e Dep. de Biologia Animal (Zoologia) UNICAMP.

E-mail do autor: [maahhh@gmail.com](mailto:maahhh@gmail.com)

**RESUMO:** Este trabalho teve como objetivo analisar, na região de Ubatuba-SP e Paraty-RJ, a ligação entre características morfológicas e o comportamento antropofílico em populações de *Simulium* sp. conhecidas como um complexo de espécies crípticas. Foram feitas coletas de larvas, pupas e adultos em locais dos dois municípios, análises morfológicas para identificação das espécies coletadas, assim como estimativa de frequência de picadas por hora por homem. Em Paraty a frequência de picadas foi zero e em Ubatuba, nos locais que havia adultos, foi baixa. A relação dos caracteres morfológicos com a antropofilia pode ser estabelecida por uma razão entre distâncias medidas a partir da garra tarsal do adulto do inseto e o próprio comportamento antropofílico, sugerindo uma baixa distância gênica entre os alelos condicionantes de tais características.

**PALAVRAS-CHAVE:** borrachudo, antropofilia, caracteres morfológicos, espécies crípticas.

**ABSTRACT:** The present study aimed to examine, in the region of Ubatuba, São Paulo and Paraty-RJ, the link between morphological characteristics and biting behavior in populations of anthropophilic *Simulium* sp., known as a complex of sibling species. It was collected larvae, pupae and adults in the two local municipalities for morphological analysis and identification of species. The frequency of bites per hour per man was estimated. At Paraty the frequency of bites was zero and in Ubatuba, in places that adults were found, the frequency was low. The relationship of morphological characters (as the ratio of distances measured at the tarsal claw of the adult) with anthropophily can be established, suggesting a low genetic distance between the alleles of these conditions features.

**KEY WORDS:** Black flies, anthropophily, sibling species.

### INTRODUÇÃO

A região de Ubatuba-SP e Paraty-RJ, como a maioria das regiões litorâneas brasileiras é caracterizada pela presença de borrachudos. No litoral do estado de São Paulo esses insetos são caracterizados como pragas, devido ao seu caráter altamente antropofílico e picada muito incômoda. A região de Paraty já foi considerada como local de alta incidência de borrachudos antropofílicos há aproximadamente dez anos, porém tal característica se perdeu nas

populações e hoje estes animais não são considerados um distúrbio ao bem estar social local.

Pertencentes ao grupo dos simulídeos (Diptera, Insecta) os borrachudos da região formam um complexo de espécies crípticas denominado *Simulium pertinax* (Araújo-Coutinho *et al*, 1988).

Na África, são caracterizados como espécies crípticas de difícil diferenciação do complexo *Simulium damnosum* e são vetores da filária *Onchocerca volvulus*, causadora da oncocercose, doença que provoca tumores

subcutâneos, e nos piores casos, ao se instalar nos olhos, cegueira parcial ou total (Crosskey, 1990). Há casos de oncocercose, vetorizadas por borrachudos na América Central, e Amazônia também.

Nos anos 80 pesquisas utilizaram métodos baseados em padrões de coloração de diversos caracteres morfológicos para diferenciar adultos do complexo africano *Simulium damnosum* e assim efetuar um controle mais eficaz dessas populações (Peterson & Dang, 1981), uma vez que a competência vetorial variava entre as espécies.

Em estudos recentes realizados na África com a finalidade de implementar um controle mais eficiente e específico dos borrachudos vetores da oncocercose, utilizou-se uma razão entre distâncias obtidas da garra tarsal dos animais obtendo, a partir dessa razão, um índice tarsal (*claw index*). Este índice foi utilizado como meio de diferenciar, morfológicamente, espécies dentro de um complexo críptico (Krüger *et al*, 1998) e em trabalhos posteriores foi relacionado com o comportamento zoofílico (em populações que apresentavam um maior índice) e comportamento antropofílico (em populações que apresentavam menor índice). Infere-se que possivelmente haja ligação gênica entre tais características (Krueger, 2006).

Em vários municípios do Estado de São Paulo, como Ilhabela, São Sebastião, Caraguatatuba e Ubatuba, técnicos das prefeituras fazem controle das populações de borrachudos com o uso de produtos feitos a partir da bactéria *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti), desde a época que as larvas adquiriram resistência ao larvicida químico. Este produto era um organofosforado, o Temephos, e foi anteriormente utilizado de modo inconsequente e por muito tempo (Pedroso-de-Paiva, 2000 e Andrade, 2006). Em Paraty nunca foi feito nenhum controle regular dos borrachudos, indicando que deve ter havido uma manutenção das populações em condições mais próximas das naturais.

Deste modo este estudo visa utilizar o *claw index* para verificar se há alguma

correlação, como a encontrada na África, entre caracteres morfológicos com a antropofilia, possibilitando um mais direcionado controle das populações e um esclarecimento sobre o complexo de espécies crípticas *Simulium pertinax* que apresenta comportamento tão diferenciado.

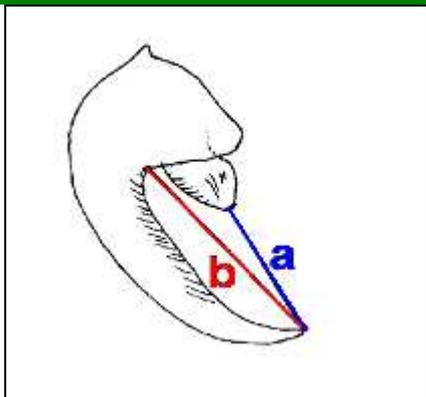
## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram feitas coletas com uso de puçá triangular para obtenção das larvas, localizadas submersas em pouca profundidade (aprox. 3-6 cm.) em pedras não lodadas, sob corrente de água constante, ou em raízes nas mesmas condições. As pupas foram coletadas em raízes e/ou folhas nas mesmas condições que as larvas. As folhas e raízes foram cortadas, nos locais que continham as pupas. Ambos os materiais coletados foram guardados em frascos com álcool 70%, para fixação.

O índice de antropofilia foi estimado no tempo de coleta das larvas e pupas e multiplicado para chegar a um índice médio por hora por pessoa no local da coleta. A quantidade de picadas foi a estimativa para o número de borrachudos adultos nas localidades.

As larvas e pupas foram observadas e triadas na lupa seguindo chave para larvas e pupas de simulídeos (Andrade, 2001).

Os adultos foram coletados ao pousar na pele com um aspirador de Castro montado com um tubo de aquário, uma rede para evitar uma ingestão acidental do inseto e um garrote para sucção e depois foram analisados em lupa binocular. Retirou-se o primeiro par de patas, observou-se e fez-se fotografias da garra tarsal em microscópio óptico acoplado à uma câmera digital para obtenção do Índice Tarsal (Figura 1), calculado a partir da razão:  $a/b$ .



**Figura 1.** Índice Tarsal para um tarso do primeiro par de patas de fêmea de *Simulium*

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os locais, condições climáticas da coleta e índice de antropofilia encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Locais de coleta, condições ambientais e taxa de antropofilia.

Localidades	Condições ambientais	Taxa de Antropofilia b/h/h*
Poço do Chico, Riacho da Graúna (Paraty-RJ)	Chuviscando, céu encoberto, mata aberta	0
Riacho-Alambique Engenho d'Ouro (Paraty-RJ)	Céu encoberto, mata sombreando	0
Riacho- Engenho Corisco (Paraty-RJ)	Céu encoberto, mata fechada e sombreando	0
Poço da Laje, Corisco (Paraty-RJ)	Céu encoberto, mata aberta	0
Rio Promirim. BR-101, Km 30. (Ubatuba-SP)	Chuviscando, céu encoberto, sombreado pela ponte.	8

\* borrachudo/hora/homem

Mesmo em condições ambientalmente favoráveis para a atividade dos borrachudos, não houve nenhuma picada em seres humanos em

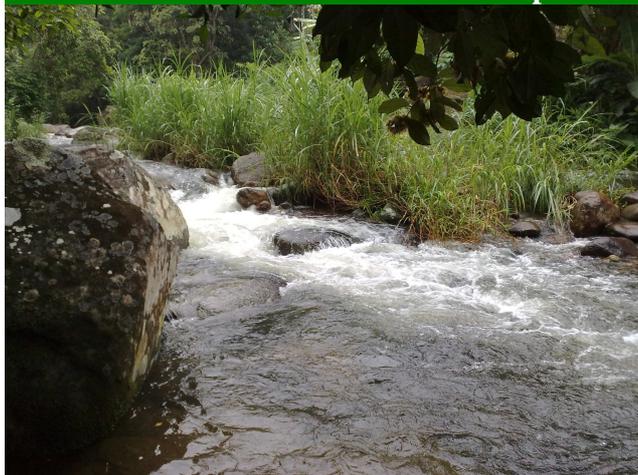
qualquer localidade de Paraty (Figuras 2, 3, 4 e 5), indicando comportamento zoofílico dessas populações.



**Figura 2.** Poço do Chico, Riacho da Graúna (Paraty-RJ)



**Figura 3.** Riacho em frente ao Alambique Engenho d'Ouro (Paraty-RJ)



**Figura 4.** Riacho em frente ao Engenho Corisco (Paraty-RJ)



**Figura 5.** Poço da Laje, Corisco (Paraty-RJ)

No Poço do Chico não se encontrou nenhuma larva, tampouco pupas de simuliídeos, provavelmente por efeito da tromba d'água que atingiu a cidade de Paraty 8 dias antes, retirando e levando-as para um local mais próximo à desembocadura do riacho.

No riacho Alambique, também atingido pela tromba d'água, encontraram-se larvas bem pequenas, que provavelmente provinham de ovos colocados após a tromba d'água e se fixaram como larvas.

Nas localidades Riacho Engenho e Poço da Laje encontraram-se muitas larvas e pupas de borrachudos. Estes locais não foram atingidos pela tromba d'água. E no Rio Promirim não foram encontradas pupas e encontraram-se apenas poucas larvas em

estádios muito iniciais do seu desenvolvimento. Esse encontro é muito provavelmente devido ao controle feito pela prefeitura com o produto à base da bactéria Bti. Adultos, também em pequena quantidade foram encontrados picando pessoas, provavelmente devido ao controle exercido anteriormente no local pelo Temephos, que exerceu uma seleção dos organismos resistentes.

A triagem das larvas e pupas em lupa confirmou que se tratava da espécie *Simulium pertinax*, complexo já conhecido como característico da região (Figura 6 e 7)



**Figura 6.** Larva de *Simulium pertinax*, com mancha característica no apotoma cefálico.



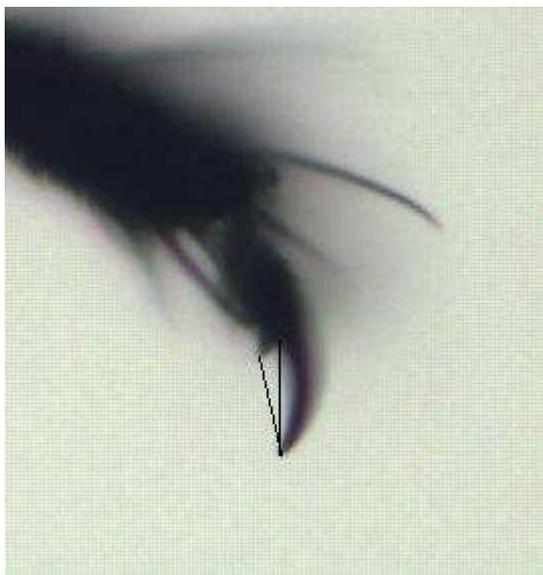
**Figura 7.** Pupa de *Simulium pertinax*, com filamentos branquiais e casulo característicos.

A partir das fotos das garras tarsais feitas sob aumento de 10x foram feitas as medidas por meio do software Photoshop CS2. Os Índices

Tarsais foram obtidos apenas para os adultos coletados em Ubatuba e foram de 0.766 (Figura 8) e 0.885 (Figura 9). Por falta de indivíduos adultos de Paraty não há meios de comparar os índices, mas a previsão seria de um índice maior. As distâncias medidas para obter o Índice Tarsal sob microscopia eletrônica de varredura podem ter mais acuidade do que as medidas a partir da microscopia óptica, e ficam como proposta para novos estudos.



**Figura 8.** Índice Tarsal 0.766.



**Figura 9.** Índice Tarsal 0.885.

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados pode-se concluir que o complexo de espécies crípticas denominado *Simulium pertinax* tem diferenças comportamentais quanto à antropofilia, evidenciando que não se trata apenas de uma única espécie.

O Índice Tarsal pode ser uma grande ferramenta para futuras pesquisas na área, podendo esclarecer melhor a situação das diferenças gênicas entre as populações das duas localidades. O controle feito pelos órgãos do governo na atualidade com o Bti tem sido muito eficiente no controle das populações de borrachudos em Ubatuba, porém o antigo uso do Temephos pode ter ligação com a alta antropofilia desses simulídeos no litoral norte de São Paulo. Fatores ambientais podem ser muito importantes para o controle das populações de espécies viventes em ambientes naturais tão vulneráveis como os rios, cuja população de borrachudos sofreu alteração pela passagem de um grande volume de água.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Carlos Fernando S. Andrade pelo grande auxílio em campo e com teoria, a Fábio Gonçalves por ajudar nas coletas, e também à Fabiana Breda, Rodolfo Gomes e Juliana Padilha pelo apoio.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDRADE, C.F.S., 2001. Bio-ecologia e controle de culicídeos e simulídeos: Manual de laboratório. Campinas, SP. Unicamp.
- ANDRADE, C.F.S., 2004. Using *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti) in Blackflies Control Programs in South and Southwestern Brazil. Disponível em: [http://www.ib.unicamp.br/profs/eco\\_aplicada/](http://www.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/) Acesso em: 17/março/2009.
- ANDRADE, C.F.S., 2006. Avaliação da Resistência de Simulídeos ao Temephos - Eficiência de Produtos a Base de *Bacillus thuringiensis israelensis*. 18pp. Disponível em: [http://www.ib.unicamp.br/profs/eco\\_aplicada/](http://www.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/) Acesso em: 17/março/2009.

- ARAÚJO-COUTINHO, C. J. P. C.; M. MAIA-HERZOG, & B. C. SOUZA, 1988. Levantamento das espécies do gênero *Simulium Latreille* (Diptera, Simuliidae) no Litoral Norte do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Entomologia* 32: 11–17.
- CROSSKEY, R. W., 1990 *The Natural History of Blackflies*. West Sussex. Ed. John Wiley & Sons. 711p.
- KRUEGER, A. Zoophily and animal filariae in *Simulium damnosum* S.L. 2006: On the indicative property of tarsal claws in females. *Acta Entomologica Serbica*, Supplement, 39-50..
- KRÜGER, A.; NURMI, V.; GARMS, R., 1998 A new species of the *Simulium damnosum* complex from Uganda, and comparative morphology of the tarsal claws in females of this complex. *Medical and Veterinary Entomology* 12: 246–254.
- PEDROSO-DE-PAIVA, D.; BRANCO, E. P. O 2000. Borrachudo: Noções Básicas de Biologia e Controle. Concórdia, SC. Embrapa,
- PETERSON, B. V.; DANG, P. T. 1981, Morphological means of separating siblings of the *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae). In: LAIRD, M.(ed.) *Blackflies* vol. 2. New York. Academic Press, p. 45-56.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Serão feitas novas coletas de larvas, pupas e adultos em outras localidades dos dois municípios, com uma criação de pupas para obtenção de adultos da região de Paraty, em que há difícil obtenção *in natura* dos insetos.

Serão feitas novas medidas de *claw index* dos novos exemplares e em microscópio eletrônico de varredura. Os dados serão disponibilizados on-line em uma versão atualizada desse artigo.

Abaixo, transcrevo resumo de trabalho apresentado no III Congresso da Sociedade Paulista de Parasitologia, 2006, Ubatuba.

**“PERSPECTIVAS DE ESTUDOS CITOTAXONÔMICOS NA DIFERENCIAÇÃO DO GRUPO *Simulium (Chirostilbia) pertinax* (DIPTERA: SIMULIIDAE) NO BRASIL.** Amalia Nelci Teresita Pascual e Carlos Fernando Salgueirosa Andrade

A taxonomia de Simuliidae, ao igual que em outros Nematoceros é inicialmente baseada nos caracteres morfológicos externos dos diferentes estádios de vida. Existe, no entanto ampla evidência de que a especiação neste grupo não corresponde à diferenciações morfológicas detectáveis, constituindo algumas espécies, na verdade, em um grande número de espécies isomórficas, ou crípticas. Assim, tem sido aplicado muito estudo citogenético e de cromossomos politênicos para a resolução taxonômica de conhecidos complexos de espécies, como nos trabalhos de Rothfels, Charalambous, Conn, ou Hamada e Adler, entre outros. *Simulium (Chirostilbia) pertinax* Kollar (1832) consiste em um complexo de importância sanitária presente no Brasil, que ainda não está completamente definido do ponto de vista taxonômico (Gil-Azevedo *et al.*, 2004), e segundo Coscarón (1991), o complexo está conformado por 9 espécies, sendo que o *S. pertinax* propriamente dito, tem sido alvo de programas de controle químico e biológico em muitas bacias de diversos estados brasileiros, incluindo o de São Paulo, devido ao comportamento altamente antropofílico e também devido ao ataque sobre animais domésticos. Estudos desta espécie já evidenciaram a existência de populações susceptíveis ao inseticida organofosforado Temephos, bem como populações resistentes, mesmo em áreas nunca tratadas com esse produto. Também já é bem conhecida a susceptibilidade das larvas à produtos a base de *Bacillus thuriangiensis var. israelensis*, hoje usado rotineiramente como larvicida. Mas não se tem, entretanto registrado, variações cromossômicas entre populações dos estados de Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (Campos *et al.*, 2001), o que indicaria a existência de uma espécie possivelmente homomórfica. E isso, por outro lado, não corresponde à evidências de variação para diferentes comportamentos, registrados nos caracteres biológicos deste grupo, como uma baixa antropofilia detectada em populações de Paraty, RJ. O objetivo do presente trabalho está em aprofundar a partir dos estudos de citotaxonomia, a diferenciação de populações e espécies do complexo *pertinax* presentes no Brasil.