

RHIALA GOMES ALBERGARIA

**ESTUDO COMPARADO DE SENSILAS ANTENAIAS DE ADULTOS DE
Toxorhynchites theobaldi, *Toxorhynchites violaceus* E *Culex bigoti*:
MOSQUITOS COM LARVAS PREDADORAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Gustavo Ferreira Martins

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A329e
2022 Albergaria, Rhiala Gomes, 1995-
Estudo comparado de sensilas antenais de adultos de
Toxorhynchites theobaldi, *Toxorhynchites violaceus* e *Culex
bigoti*: Mosquitos com larvas predadoras / Rhiala Gomes
Albergaria. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (45 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Gustavo Ferreira Martins.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Entomologia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 37-45.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.491>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Mosquitos - Anatomia. 2. Órgãos do sentidos. 3. Antenas
(Biologia). 4. Microscopia eletrônica de varredura. I. Martins,
Gustavo Ferreira, 1980-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em
Entomologia. III. Título.

CDD 22. ed. 595.77

RHIALA GOMES ALBERGARIA

**ESTUDO COMPARADO DE SENSILAS ANTENAIAS DE ADULTOS DE
Toxorhynchites theobaldi, *Toxorhynchites violaceus* E *Culex bigoti*:
MOSQUITOS COM LARVAS PREDADORAS**

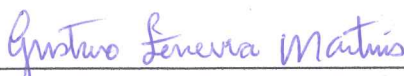
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de maio de 2022

Assentimento:



Rhiala Gomes Albergaria
Autora



Gustavo Ferreira Martins
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Universidade Federal de Viçosa, pelo acolhimento e pela oportunidade de enriquecer minha formação.

Ao programa de Pós-Graduação em Entomologia, pela oportunidade de aprendizado em um dos melhores programas, na área que sempre quis.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, 001), pela bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, APQ-00560-17), pelo recurso para que a pesquisa fosse desenvolvida.

Ao professor Gustavo Ferreira Martins, por ser um orientador presente, solícito, sempre paciente e compreensivo. Pela orientação didática, seriedade e profissionalismo.

À saudosa professora Flávia Maria da Silva Carmo (*in memoriam*), que assim como mãe, sabia acalmar e me guiar nas tomadas de decisões nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Neiva e Marcos por todo apoio que nunca deixaram de me dar. Pelo exemplo de vida que me motiva a acreditar que sempre posso mais.

Aos amigos da Biologia, que sempre me acompanham. Ao Otávio, pelo apoio no momento em que mais precisei de um ombro amigo que me segurasse, serei eternamente grata! À Andreza, Mirelle e Lidiane, pela amizade e companheirismo que sempre nos une.

Ao Gabriel, por me ajudar a manter o foco e a disciplina, além de me fazer sorrir e sentir feliz.

Ao pessoal do laboratório de Biologia Molecular de Insetos, pelos momentos de descontração.

Às meninas da república, que tornaram a volta para Viçosa, em meio a pandemia, mais leve e acolhedora.

"It always seems impossible until it's done."
Nelson Mandela
1918-2013

RESUMO

ALBERGARIA, Rhiala Gomes, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, maio de 2022. **Estudo comparado de sensilas antenais de adultos de *Toxorhynchites theobaldi*, *Toxorhynchites violaceus* e *Culex bigoti*: Mosquitos com larvas predadoras.** Orientador: Gustavo Ferreira Martins.

Fêmeas de mosquitos adultos (Culicidae) (Meigen, 1818) normalmente são hematófagas, o que está ligado a transmissão de patógenos envolvidos no desenvolvimento de infecções de importância epidemiológica. A busca por estratégias para controlar o aumento da incidência de infecções transmitidas por mosquitos, como o *Aedes aegypti*, é de suma importância para evitar problemas de saúde pública. O conhecimento da fisiologia e morfologia de potenciais agentes de controle biológico dos vetores, permite o desenvolvimento de técnicas cada vez mais eficazes de controle populacional. Larvas de alguns mosquitos são predadoras de larvas de invertebrados, incluindo de espécies de mosquitos. Para auxiliar nas pesquisas sobre abordagens no controle de vetores epidemiológicos, se fazem necessários mais estudos sobre sua biologia, o que inclui informações sobre as antenas, órgãos que possuem importante participação na busca dos vetores hematófagos por hospedeiros e da seleção do local para a oviposição. No presente trabalho, foi feita a caracterização das sensilas presentes no flagelo das antenas de adultos de mosquitos (*Toxorhynchites theobaldi*, *Toxorhynchites violaceus* exclusivamente fitófagos - e *Culex bigoti* – com fêmeas adultas hematófagas) que são predadores durante a fase larval. Após comparação entre os tipos de sensilas presentes em cada espécie, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram identificados cinco tipos básicos de sensilas antenais: tricoide, cética, celocônica, basicônica e ampulácea. As sensilas antenais dos indivíduos adultos das três espécies predadoras durante a fase larval, são semelhantes, assim como quando comparadas com espécies hematófagas com hábito alimentar larval diferente. A semelhança morfológica sugere que independente dos hábitos alimentares de cada espécie, essas sensilas podem estar envolvidas em comportamentos comuns.

Palavras-chave: Sensilas. Antenas. Mosquito. Microscópio eletrônico de varredura.

ABSTRACT

ALBERGARIA, Rhiala Gomes, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, May, 2022. **Comparative study of antennal sensilla from adults of *Toxorhynchites theobaldi*, *Toxorhynchites violaceus* and *Culex bigoti*: Mosquitoes with predatory larvae.** Adviser: Gustavo Ferreira Martins.

Adult female mosquitoes (Culicidae) (Meigen, 1818) are normally hematophagous, which is related to the transmission of pathogens involved in the development of infections of epidemiological importance. The search for strategies to control the increase in the incidence of infections transmitted by mosquitoes, such as *Aedes aegypti*, is very important to circumvent public health problems. Knowledge of the physiology and morphology of potential agents for biological control of vectors allows the development of more effective techniques for population control. Larvae of some mosquitoes are predators of invertebrate larvae, including mosquito species. To assist in research on approaches to the control of epidemiological vectors, further studies on their biology are needed, which include information on antennae, organs that play an important role in the search for hematophagous vectors by hosts and site selection for oviposition. In the present work, we characterized the sensilla present in the antennae flagellum of adult mosquitoes (*Toxorhynchites theobaldi*, *Toxorhynchites violaceus* exclusively phytophagous - and *Culex bigoti* - with hematophagous adult females) that are predators during the larval stage. It was compared the types of sensilla present in each species by means of scanning electron microscopy (SEM). Five basic types of antennal sensilla were identified: trichoid, chaetica, coeloconic, basiconic, and ampulaceous. The antennal sensilla of adult individuals of the three predatory species during the larval stage are similar, as well as when compared with hematophagous species with different larval feeding habits. This morphological similarity suggests that, regardless of the feeding habits of each species, these sensilla may be involved in common behaviors.

Keywords: Sensilla. Antenna. Mosquito. Scanning electron microscope.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
1.1.	<i>Toxorhynchites</i>	8
1.2.	<i>Culex (Lutzia) bigoti</i>	9
1.3.	Sensilas	10
1.3.1.	Sensilas antenais	10
2.	OBJETIVO	14
2.1	Objetivo principal	14
2.2	Objetivo específico	14
3.	MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1.	Coleta e criação dos mosquitos	14
3.2.	Dissecção	15
3.3.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	15
3.4.	Análise morfológica.....	16
4.	RESULTADOS	16
4.1.	Morfologia geral das antenas femininas.....	16
4.2.	Morfologia geral das antenas masculinas.....	18
4.3.	Sensilas	20
5.	DISCUSSÃO	33
6.	CONCLUSÃO	37
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

A família Culicidae (Meigen, 1818) é um grupo monofilético que engloba cerca de 3.586 espécies de mosquitos, divididos em duas subfamílias (*Anophelinae* e *Culicinae*) e aproximadamente 113 gêneros (Harbach, 2008; Harbach, 2021). Alguns gêneros, mesmo hematófagos, são considerados parcialmente fitófagos (Stone *et al.*, 2018), no entanto mosquitos do gênero *Toxorhynchites* possuem alimentação exclusivamente fitófaga durante a fase adulta, ou seja, não realizam hematofagia (Rivera-Pérez *et al.*, 2017). Durante o estágio larval, predam larvas de outros mosquitos, incluindo os de importância médica, sendo assim, um potencial agente de controle biológico (Focks, 2007; Bellamy e Alto, 2018).

Diferentemente dos mosquitos hematófagos, principalmente os do gênero *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*, há relativamente poucos estudos sobre a biologia, fisiologia e morfologia dos adultos de *Toxorhynchites*, incluindo estudos do aparato sensorial. Como as antenas têm importante participação na busca dos vetores hematófagos por hospedeiros (Syed e Leal, 2009; Hansson e Stensmyr, 2011), conhecer os tipos de sensilas antenais envolvidas no comportamento não hematófago e comparar com as de espécies hematófagas, pode auxiliar nas pesquisas sobre abordagens para o controle de doenças e conhecer aspectos envolvidos nos diferentes estilos de vida.

1.1. *Toxorhynchites*

Devido ao tamanho relativamente maior que o de outros membros da família Culicidae e ao formato de sua probóscide curvada para baixo, os *Toxorhynchites* são comumente referidos como “mosquitos elefantes” (Donald, *et al.* 2020). Durante a fase adulta, seu corpo é recoberto por escamas de cores vivas como azul, verde e púrpura. As larvas são bem características, possuindo uma coloração que varia entre tons de vermelho e roxo e um corpo de tamanho relativamente maior que o de outras larvas (Wrbu, 2014). Ambos os sexos são fitófagos durante a fase adulta e se alimentam exclusivamente de néctar e outras substâncias açucaradas de onde adquirem nutrientes, carboidratos e não carboidratos, incluindo aminoácidos, sais e vitaminas (Rivera-Pérez *et al.*, 2017). Além disso, em seu estágio larval, os *Toxorhynchites* se alimentam de outras larvas de invertebrados, incluindo mosquitos, principalmente as

espécies de importância epidemiológica como o *Aedes aegypti*, responsável por transmitir patógenos da dengue, febre amarela, chikungunya e Zika (Alonso-Palomares *et al.*, 2018). Assim, as larvas ao consumirem grandes quantidade de presas, adquirem as proteínas e lipídeos necessários para que a fêmea adulta, autógena, tenha uma ovogênese bem-sucedida (Watts e Smith, 1978).

Por não representarem risco à saúde e serem predadores de larvas de mosquitos vetores, alguns estudos mostram que *Toxorhynchites* (Toxorhynchitini) são potenciais agentes para controle biológico (Focks, 2007; Bellamy e Alto, 2018; Marshall e Butler, 2020). Entretanto, os adultos das espécies do gênero ainda são pouco estudados (Collins e Blackwell, 2000), obtendo um foco maior na fase larval (Jez e McIver, 1980) e mais estudos sobre sua morfologia e comportamento precisam ser realizadas para possibilitar experimentos de controle biológico.

Compreender se a hematofagia foi perdida ou se foi uma adaptação que surgiu em linhagens específicas, pode auxiliar nas pesquisas sobre genes-chave que possam estar envolvidos no surgimento de um estilo de vida sem picadas, como uma alternativa de mitigação da transmissão de doenças por vetores hematófagos (Donald, *et al.* 2020).

1.2. *Culex (Lutzia) bigoti*

O subgênero *Lutzia* (Culicini) inclui nove espécies divididas em três subgêneros: *Insulalutzia* (uma espécie), *Lutzia* (duas espécies) e *Metalutzia* (seis espécies) (Harbach, 2008). *Culex bigoti* é uma das espécies incluídas no subgênero *Lutzia*. Esta espécie possui o tamanho corporal relativamente grande comparado a outros culicíneos (Harbach, 2008). Em seu estágio imaturo, assim como em *Toxorhynchites*, as larvas são predadoras, principalmente de larvas de outros mosquitos (Lopes, 1999; Pérez-Santiago *et al.*, 2019). Entretanto, durante a fase adulta a fêmea realiza hematofagia, alimentando-se em vertebrados, mas raramente em seres humanos (Harbach, 2008; Berti *et al.*, 2009; Medeiros-Sousa *et al.*, 2013).

Por serem predadoras ativas e vorazes de larvas de mosquitos, como as de *A. aegypti*, e não apresentarem perigo como possíveis vetores de doenças para os seres humanos, a espécie tem potencial como controle biológico de vetores (Pérez-Santiago *et al.*, 2019). Porém, assim como para *Toxorhynchites*, há poucos estudos sobre a morfologia e até mesmo a biologia de *C. bigoti*.

1.3. Sensilas

A relação adequada do animal com o meio em que vive é de suma importância para a sobrevivência. Essa interação com o ambiente depende de captar uma ampla gama de estímulos químicos, físicos, térmicos (Hallberg e Hasson, 1999) e responder às mesmas de forma coordenada (De Bruyne e Baker, 2008).

A maioria dos comportamentos como localização de hospedeiro, recursos alimentares, parceiros reprodutivos, busca por local para oviposição e até organização da colônia em insetos sociais (Hansson e Stensmyr, 2011), são processados pelo sistema nervoso do animal a partir de estímulos assimilados por estruturas presentes no corpo do inseto e os transmitem para o sistema nervoso (De Bruyne e Baker, 2008). A percepção do ambiente, por meio de estímulos químicos, requer especializações para permitir que a quimiorrecepção ocorra. As principais estruturas envolvidas nesse processo são as sensilas, órgãos sensoriais cuticulares compostos por pelo menos três elementos estruturais: as células neurais, células envelope, e a estrutura cuticular (Hallberg, 1999). As sensilas atuam em uma variedade sensorial, como mecanorrecepção, termorrecepção, higrorrecepção (percepção de alterações da umidade do ambiente), gustação e olfato (McIver, 1974; Altner e Loftus, 1985). Elas estão espalhadas por toda a superfície corpórea, principalmente nas pernas, peças bucais e antenas dos insetos (Pinto, 2009).

Nos mosquitos, as sensilas com receptores olfativos estão localizadas principalmente nas antenas (Takken e Verhulst, 2013), que detectam e discriminam estímulos químicos transmitidos pelo ar, as quais orientam as fêmeas hematófagas a encontrarem o hospedeiro adequado, enquanto orientam machos e fêmeas a encontrarem variadas fontes de néctar necessário para a alimentação (Chapman, 2013).

1.3.1. Sensilas antenais

As antenas flagelares estão presentes nos Thysanura, pertencentes ao grupo dos Apteriygota (que não possuem asas), e em todos os Pterygota (alados), incluindo os mosquitos, que possuem a morfologia das antenas bem conservada (Schneider, 1964; Ibrahim *et al.*, 2018).

As antenas são divididas em três segmentos: dois segmentos basais, sendo o escapo, ligado a cabeça por uma membrana flexível, e o pedicelo. O terceiro segmento é o flagelo, localizado mais distal em relação à cabeça, sendo o mais alongado e subdividido em flagelômeros, cobertos por sensilas (Gullan *et al.*, 2007; Hempolchom *et al.*, 2017). As sensilas antenais não estão distribuídas aleatoriamente na superfície das antenas (Zacharuk, 1985), assim como a quantidade pode variar em cada região, muitas das antenas possuem um longo trecho proximal com poucas sensilas, enquanto alguns segmentos distais têm maior variedade e quantidade de estruturas sensoriais (Schneider, 1964). A distribuição, variedade e quantidade de sensilas presentes nas antenas depende da necessidade e diversidade do comportamento do inseto (Faucheux *et al.*, 2006).

A morfologia externa das sensilas pode ter relação com as funções que desempenham e de acordo com o formato que apresentam são classificadas em diferentes tipos (Hallberg *et al.*, 2003). Embora possa ocorrer alguma variação, os mosquitos possuem cinco tipos de sensilas antenais distribuídas ao longo de suas antenas sendo elas, sensilas tricoide, cética, basicônica, celocônica e ampulácea (McIver, 1982).

As sensilas do tipo tricoide (ST) são finas e alongadas e surgem diretamente da antena, sem qualquer alvéolo cuticular basal de inserção especializado como membrana de articulação. Há diferentes subtipos de ST (Schneider, 1964; Hallberg *et al.*, 2003). As ST são encontradas na maioria dos insetos, e são envolvidas no dimorfismo sexual de alguns grupos, como em mariposas Sauriidae, cujos machos apresentam subtipos específicos de ST (Da Silva *et al.*, 2019). Vespas do gênero *Agelaia* e *Polistes*, apresentam ST de morfologia externa helicoidal e diferentes subtipos que podem exercer a mesma função, o tato, para verificar e manter a integridade do ninho aberto (Walbrink, 2019). Em *Culex quinquefasciatus*, os subtipos de ST possuem ponta pontiaguda, afuniladas uniformemente ao longo do comprimento, finalizando em um único ponto (Dhanalakshmi *et al.*, 2018). Enquanto em *A. aegypti*, há quatro subtipos ST: de pontiaguda longa, pontiaguda curta e dois tipos de ST com a ponta não afiada (Siju *et al.*, 2010).

A presença de neurônios receptores olfativos (NROs) em ST, sugere que esta, esteja ligada a função olfativa, atuando no mecanismo de percepção das moléculas de odor (Siju *et al.*, 2010). Em mosquitos hematófagos, a ST detecta o ácido carboxílico exalado da pele dos animais, e agem como receptores olfativos para

detectar as várias substâncias químicas produzidas pelo hospedeiro (Dhanalakshmi *et al.*, 2018).

Outros tipos de sensila encontrada nas antenas de insetos, incluindo mosquitos, são as célicas (CE), que diferente das ST possuem parede cuticular espessa inseridas em uma cavidade com membrana circular e flexível na base (alvéolo basal). Sensilas CE são geralmente longas com sulcos longitudinais (Hallberg *et al.*, 2003). A forma alongada, a ausência de poros na cutícula e a presença de alvéolo basal sugerem que as CE sejam mecanosensores (Diakova *et al.*, 2018). Em Coleoptera, alguns subtipos de CE apresentam forma levemente curvada e ranhuras na superfície (Di Palma *et al.*, 2019). Enquanto em fêmeas adultas de culicídeos hematófagos, as CE são divididas em dois subtipos. As CE grandes, são encontradas dispostas em um verticilo em cada base dos flagelômeros 2-13, distribuídas uniformemente em circunferência; as CE pequenas são encontradas geralmente perto da borda distal dos flagelômeros 2-13, diminuindo ligeiramente em número, encontrado da porção proximal para a distal dos flagelômeros (Hempolchom, 2017). Tanto a forma quanto a distribuição de cada um dos dois tipos de CE são semelhantes em *Anopheles gambiae* e *Anopheles quadrianulatus* (Pitts e Zwiebel, 2006).

Sensilas celocônicas (CO) assemelham-se a um pino localizado em uma reentrância na cutícula em forma de cova. As CO possuem paredes espessas que apresentam ranhuras em sua superfície e são divididas em dois subtipos de acordo com sua morfologia externa, a celocônica grande (COg) e a celocônica pequena (COp) (McIver, 1982).

Apenas anofelinos adultos possuem COg, geralmente ausente nas antenas de Culicini e Toxorhynchitini (McIver, 1982). Em algumas espécies de *Anopheles*, notavelmente, tais sensilas são encontradas no primeiro flagelômero, variando de duas a sete CO grandes (Hempolchom, 2017). A abertura apical da COg é arredondada e possui uma cerda em seu interior ou fenda. A ponta da cerda aparece projetada para além da borda da entrada da fenda. Devido à presença de poros apicais, provavelmente as CO são quimiorreceptoras olfativas (McIver, 1982).

Já a sensila celocônica pequena (COp) possui uma cerda inserida no interior da fenda, mas sem se projetar para fora. Essas sensilas têm estrutura semelhante à de um vulcão, com abertura apical menor que a COg. Em mosquitos, esse subtipo de CO é encontrada no primeiro flagelômero e na ponta do último flagelômero antenal

(Davis e Sokolove, 1975; Hempolchom, 2017). Foi demonstrado em fêmeas de *A. aegypti* que dois neurônios que inervam a CO são termorreceptores. Enquanto um é sensível ao calor, reagindo a aumentos súbitos de temperatura, o outro é sensível ao frio, respondendo a diminuições repentinas na temperatura (Davis e Sokolove, 1975).

As sensilas basicônicas (SB), possuem o mesmo tipo de estrutura da ST, porém, são mais curtas e com paredes mais finas, podem possuir forma de uma estaca, papila ou cone, e assim como as ST, não estão inseridas em qualquer tipo de alvéolo cuticular basal de inserção em um encaixe na cutícula antenal (Chapman, 1998). Alguns subtipos de SB podem estar elevados em uma pequena proeminência. Diferente da ST, a SB, ocasionalmente possui ranhuras em sua parede, que se estendem até a base e terminam logo abaixo da ponta (McIver, 1974). As SB são sensilas olfativas (McIver, 1974; Kristensen, 2003), além de poderem ser higrorreceptoras (Chapman, 1998). Tais sensilas presentes em borboletas do gênero *Troides*, têm função termo/higrorreceptor, ideais para monitorar a temperatura do ambiente (Kristensen, 2003). Em *A. aegypti*, a distribuição da SB aumenta da região proximal (próxima à cabeça) em direção à região distal do flagelo com distribuição ao longo do segmento flagelar (McIver, 1974).

A sensila ampulácea (SA), é uma pequena elevação cuticular com um orifício elíptico na região apical, e está presente nas antenas da maioria dos mosquitos. Por possuir uma notável semelhança morfológica externa com a COp, pode ser que suas funções sejam as mesmas, atuando como termorreceptor (McIver, 1982; Hill *et al.*, 2009). Em *Culex*, esse tipo de sensila ocorre no primeiro segmento basal do flagelo, geralmente na parte ventral (Ibrahim *et al.*, 2018).

Devido às diferenças no hábito alimentar de mosquitos hematófagos e não hematófagos, espera-se que haja divergências em relação aos tipos de sensilas destinadas a encontrar determinada fonte de alimento de acordo com o tipo de alimentação. Os resultados do presente trabalho constituem potencial para o entendimento das diferenças comportamentais alimentares encontradas entre culicídeos hematófagos e não hematófagos, assim como endossar estudos sobre a filogenia e evolução das linhagens não hematófagas dentro da família Culicidae e expandir o conhecimento sobre compreensão da biologia de espécies que se alimentam de sangue e apresentam importância médica.

As informações sobre pistas olfativas e as sensilas quimiossensoriais em mosquitos adultos exclusivamente fitófagos também podem fornecer *insights* sobre as vias de sinalização que estão envolvidas no comportamento alimentar destes mosquitos, e por conseguinte identificar as diferenças entre os hematófagos. Estas informações podem ajudar no desenvolvimento de compostos repelentes aprimorados contra os vetores ou que sejam capazes de intervir na seleção do local de oviposição (Donald, *et al.*, 2020), na busca por hospedeiro e outras fontes de alimento (Zwiebel e Takken, 2004; Wolff e Riffell, 2018).

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo principal

Testar a hipótese de que as sensilas antenais presentes em culicídeos adultos de diferentes espécies com hábito alimentar de predação durante a fase larval são semelhantes.

2.2 Objetivo específico

Identificar e caracterizar as sensilas antenais presentes nos mosquitos adultos.

Categorizar as sensilas de acordo com o sexo e o gênero.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta e criação dos mosquitos

Larvas predadoras e pupas de *Toxorhynchites theobaldi* (adultos exclusivamente fitófagos) e *C. bigoti* (fêmeas adultas hematófagos) foram coletadas em uma reserva na Mata do Paraíso (Fragmento de mata Atlântica, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 20°45'14"S, 42°52'55"W) sob licença 56917-1 (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Ministério do Meio Ambiente). Foi realizada a

coleta de imaturos encontrados em armadilhas (baldes de plástico de cinco litros de capacidade) no chão, contendo água da chuva ou de aquífero, próximos a troncos de árvores, simulando o ambiente em que os mosquitos depositam seus ovos.

Espécimes de *Toxorhynchites violaceus* (cuja larva também é predadora e o adulto é fitófago) foram coletados na água armazenada na bacia de bromélias de diferentes espécies presentes nos jardins do Clube Sossego, propriedade rural do município de Coimbra (MG), durante o dia. Adultos de *T. violaceus* também foram coletados quando detectados sobrevoando as bromélias. Espécimes adultos foram identificados com chave taxonômica (Andrade e Corte, 2021).

Os insetos foram transferidos para o insetário no Departamento de Biologia Geral (UFV), onde permaneceram numa sala sem controle de temperatura ou umidade e sob luz natural para que ocorra o desenvolvimento dos diferentes estágios coletados até a fase adulta.

As larvas foram alocadas em recipientes plásticos contendo água filtrada de torneira e alimentadas com larvas de *A. aegypti* criadas em condições controladas ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$, 12h de fotoperíodo) e alimentadas com ração de tartaruga. As pupas foram mantidas em recipiente com água dentro de gaiolas de plástico até a emergência do adulto. Os adultos, por sua vez, foram alimentados com solução de água e açúcar (9:1).

3.2. Dissecção

Machos e fêmeas de mosquitos adultos emergidos em laboratório (2-7 dias de idade) ou provenientes do campo foram anestesiados com CO_2 e dissecados em solução tampão fosfato-salina (PBS) para a retirada das cabeças armazenadas imediatamente em fixador glutaraldeído (2,5% em tampão cacodilato de sódio) e mantidas a 4°C por tempo indeterminado até a desidratação.

3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram lavadas com água destilada e desidratadas de maneira lenta e gradual em solução crescente de etanol (30-100%). O material desidratado e em etanol 100% passou por secagem em aparelho de Ponto Crítico (Bal-tec CPD030), utilizando-se dióxido de carbono como agente de troca. Após a secagem, as amostras

(cabeças inteiras com antenas ou antenas separadas) foram montadas em suportes (*stubs*) de alumínio cobertos com fita de carbono dupla face. Após a montagem, as amostras foram cobertas com ouro em metalizador. As amostras metalizadas foram analisadas e fotografadas no microscópio eletrônico de varredura Leo 1430VP do Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV e posteriormente classificadas.

3.4. Análise morfológica

A classificação das estruturas identificadas como sensilas antenais, foi feita de acordo com a nomenclatura, descrições dos tipos morfológicos e comparações com imagens encontradas na literatura especializada em órgãos sensoriais de insetos. A provável função de cada tipo de sensila é discutida com base em estudos estruturais e bioensaios eletrofisiológicos realizados anteriormente (Davis e Sokolove, 1975; McIver, 1982; Siju *et al.*, 2010; Diakova *et al.*, 2018).

4. RESULTADOS

4.1. Morfologia geral das antenas femininas

A morfologia das antenas de fêmeas das três espécies de culicídeos analisados (*T. theobaldi*, *T. violaceus* e *C. bigoti*), são semelhantes, sendo antenas alongadas do tipo pilosas, compostas por 15 segmentos divididos em três partes: o escapo (E), pedicelo (P) e o flagelo (F). O flagelo é composto por 13 flagelômeros (Fig. 1). Nas regiões próximas aos limites de um flagelômero e outro há concentração de sensilas muito longas. Entretanto, em *C. bigoti*, (Fig. 1C), as sensilas localizadas próximas dos limites entre os flagelômeros aparentam ser menores e em menos quantidades do que em *T. theobaldi* (Fig.1A) e *T. violaceus* (Fig. 1B).

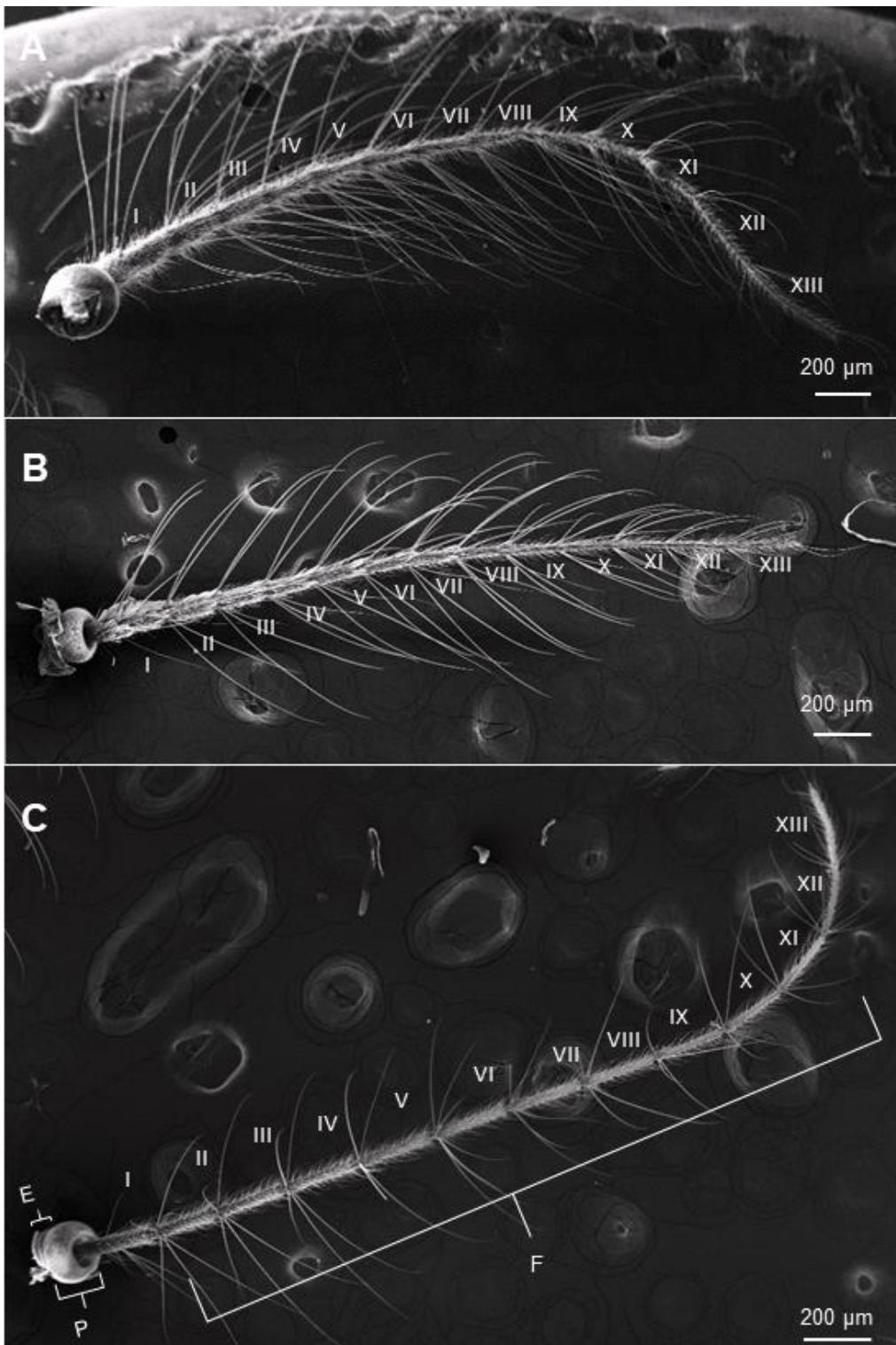


Figura 1. Micrografias eletrônicas de varredura das antenas de fêmeas adultas de *T. theobaldi* (A), vista ventral e de *T. violaceus* (B) e *C. bigoti* (C), vista dorsal; indicando o escapo (E), pedicelo (P) e o flagelo (F) subdividido em 13 flagelômeros (I – XIII).

4.2. Morfologia geral das antenas masculinas

Os machos das três espécies possuem antena plumosa, composta por 16 segmentos divididos em três partes: o escapo (E), pedicelo (P) e o flagelo (F), composto por 14 flagelômeros (Fig.2). A quantidade de sensilas alongadas presentes nas antenas de machos é visualmente maior em relação às encontradas em fêmeas, porém, as antenas femininas parecem abrigar sensilas quimiorreceptoras em todos os flagelômeros, enquanto as antenas masculinas, elas estão restritas ao primeiro e os dois últimos flagelômeros.

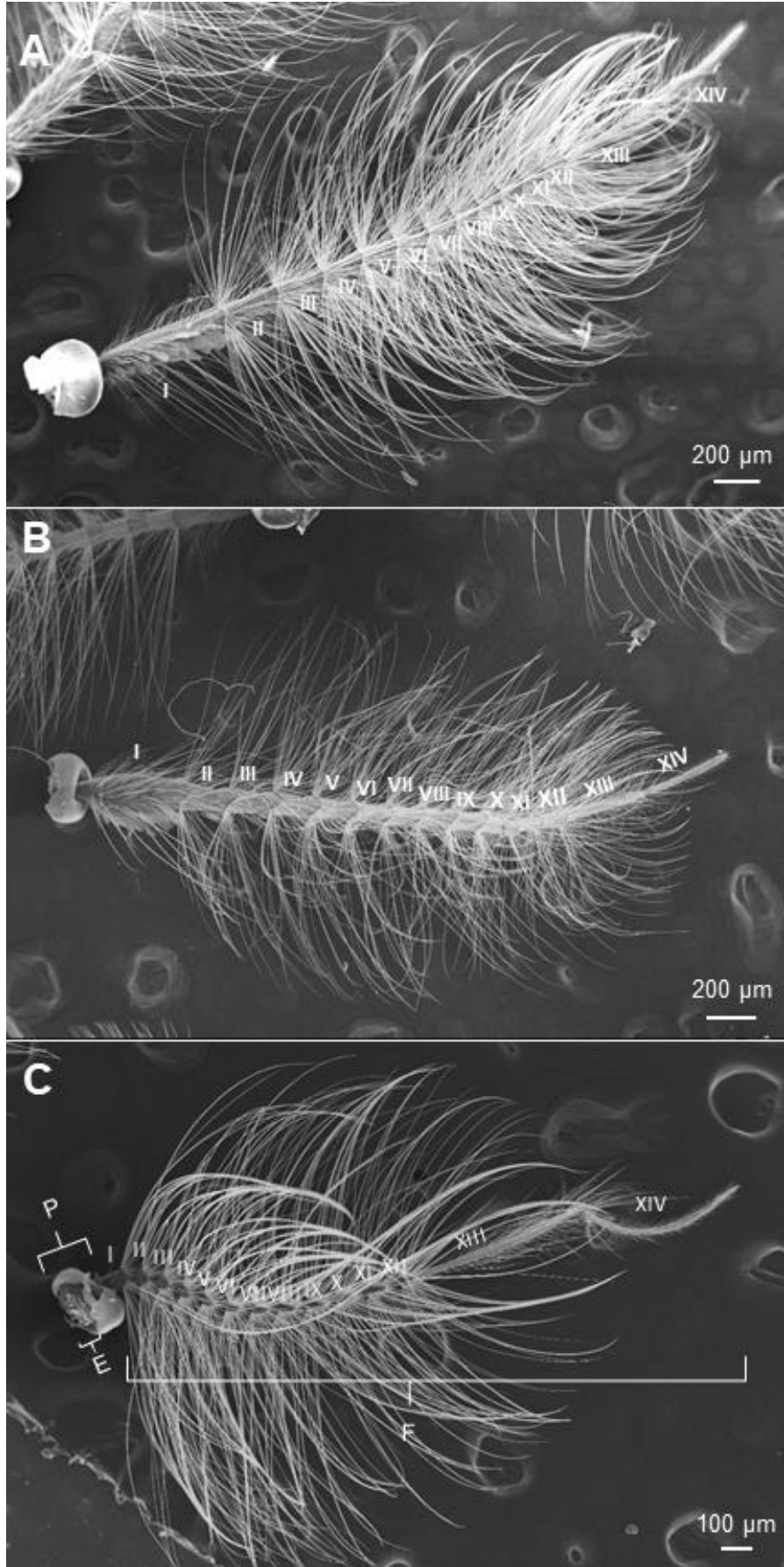


Figura 2. Micrografias eletrônicas de varredura das antenas de machos adultos de *T. theobaldi* (A), *T. violaceus* (B) e *C. bigoti* (C), indicando o escapo (E), pedicelo (P) e o flagelo (F) subdividido em 14 flagelômeros (I – XIV).

4.3. Sensilas

Os tipos de sensilas presentes ao longo do flagelo foram definidas e nomeadas com base nas características morfológicas observadas ao MEV. Cinco tipos básicos de sensilas foram encontrados nas três espécies: sensilas tricoides (ST), sensilas céticas (CE), sensilas celocônicas (CO), sensilas basicônicas (SB) e sensilas ampuláceas (SA) (Fig. 1 a 7). As antenas de todos os espécimes são recobertas por pequenas pilosidades não inervadas do tipo microtriquia (Mt) e os dois primeiros flagelômeros foram os que tiveram a maior diversidade de sensilas.

Por serem morfolologicamente semelhantes, foram usadas figuras de sensilas encontradas em machos de *T. theobaldi* para representar as duas espécies de macho de *Toxorhynchites*.

Sensila Tricoide (ST)

As ST são as mais abundantes, e possuem a maior variedade de subtipos. São semelhantes a pelos não inseridos em alvéolos basais protuberantes. De acordo com a morfologia, foi possível separá-las em três subtipos, do I ao III.

Sensila Tricoide do tipo I (STI)

As STI estão presentes nas fêmeas e machos. As STI são longas e finas de ponta afiada, com a base inclinada no sentido a extremidade distal da antena (Fig. 3A; 4A; 5A; 6A; 7A e B). Estão presentes do primeiro ao último flagelômero e sua quantidade aumenta da região proximal para a distal do flagelo. Porém, em fêmeas de *C. bigoti*, a quantidade de STI no primeiro flagelômero é menor que nas espécies de *Toxorhynchites*. A densidade de STI aumenta a partir da porção distal do primeiro flagelômero (Fig. 6A) até o último.

Sensila Tricoide do tipo II (STII)

As STII são semelhantes às STI, sendo mais curtas e finas. Também possuem a base inclinada no sentido da extremidade distal da antena. As STII foram

observadas em maior concentração nos dois primeiros flagelômeros, na região ventral das antenas das três espécies e em ambos os sexos (Fig. 3A; 4A e C; 5A e B; 6A; 7A e D). Machos de *T. theobaldi*, *T. violaceus* e *C. bigoti* possuem tais subtipos circundando próxima as articulações que conectam os flagelômeros 2-12, antes da transição de um flagelômero para outro, com cada espécie apresentando um padrão diferente. As STII estão em maior quantidade nos demais flagelômeros das fêmeas e ao redor da porção distal de cada flagelômero dos machos antes da transição entre um flagelômero e outro (Fig. 4C e 7D).

Sensila Tricoide do tipo III (STIII)

Assim como as STI, as STIII são longas e de superfície lisa, porém, não possuem a ponta afilada e aguda, mas ligeiramente arredondada. O subtipo foi encontrado em ambos os sexos das três espécies (Fig. 3A e H; 4F; 5A; 6A; 7B).

Sensila Cética (CE)

As CE são sensilas com ranhuras e que se originam de um alvéolo proveniente da cutícula da antena. Há dois subtipos de CE: as grandes (CEg) e as pequenas (CEp). A morfologia e distribuição das CE é semelhante nas três espécies. As CEg são distribuídas uniformemente e dispostas em mesmo nível ao redor do eixo da base de cada flagelômero do 2-13 no qual se inserem. As CEp são encontradas geralmente perto da borda distal dos flagelômeros, e a quantidade diminui sutilmente da parte proximal para a distal do flagelo. O subtipo CEg, foi observada ao longo das antenas das três espécies, em ambos os sexos (Fig. 3A, F e H; 4A e D; 5A, E e F; 6A; 7A e F), assim como as CEp (Fig. 3B; 4A, B e C; 5E; 6A; 7F).

Sensila Celocônica (CO)

As CO possuem paredes espessas e são inseridas em uma depressão da parede cuticular. Foi observado dois subtipos, as sensilas CO pequenas (COp), que possuem uma abertura apical pequena com cerda cilíndrica inserida no fundo do poro, e que não se projeta para fora da cova e as CO grandes (COg), com abertura apical relativamente maior que a COp, com cerda em forma de pino único que se projeta para a superfície, além da borda da cova

Nas fêmeas das três espécies e machos de *T. theobaldi* e *T. violaceus* foram encontradas duas COp na ponta do último flagelômero (Fig. 3H; 4F e G; 5F; 6E),

enquanto nos machos de *C. bigoti*, há três COp (Fig. 7B e E). Além das duas COp apicais, foi observada outra no quarto flagelômero em uma fêmea de *T. violaceus* (Fig. 5D). As COp encontradas em *C. bigoti*, são mais proeminentes que as das outras espécies (Fig. 6E e 7B e D).

Foi observada apenas uma COg, dentre as três espécies, no flagelo de um espécime fêmea de *T. theobaldi* (Fig. 3G).

Sensila Basicônica (SB)

As SB são encontradas ao longo do flagelo antenal de todas as três espécies e em ambos os sexos. Possuem um formato de espinho semelhante às ST, porém, com ranhuras ao longo de suas superfícies (Fig. 3A, C e E; 4E; 5C; 6C; 7B e C). Nas fêmeas de ambas as espécies, a SB está presente a partir na porção distal do primeiro flagelômero, e aparentemente aumenta a quantidade ao longo do flagelo. Nos machos, a maioria das SB estão presentes nos dois últimos flagelômeros distais.

A morfologia básica da SB é semelhante entre as espécies, uma sensila com formato semelhante a uma garra cônica, com a base larga que vai se afunilando e encurvando até a ponta distal. Em fêmeas de *T. theobaldi* foi possível notar a presença de uma variação da SB (Fig. 3E) retilínea com a base cilíndrica, em que apenas a porção distal afunila.

Sensila Ampulácea (SA)

As SA possuem uma pequena abertura apical estreita ou em fenda. A maior parte das SA das fêmeas e machos analisados, são encontradas na região ventral dos primeiro e segundo flagelômeros (Fig. 3B e D; 4B; 5B e D; 6A, B e D; 7D). As SA também estão espalhadas, em alguns segmentos intermediários e distais do flagelo (Fig. 7C).

A tabela 1 compila as características observadas em cada tipo de sensila.

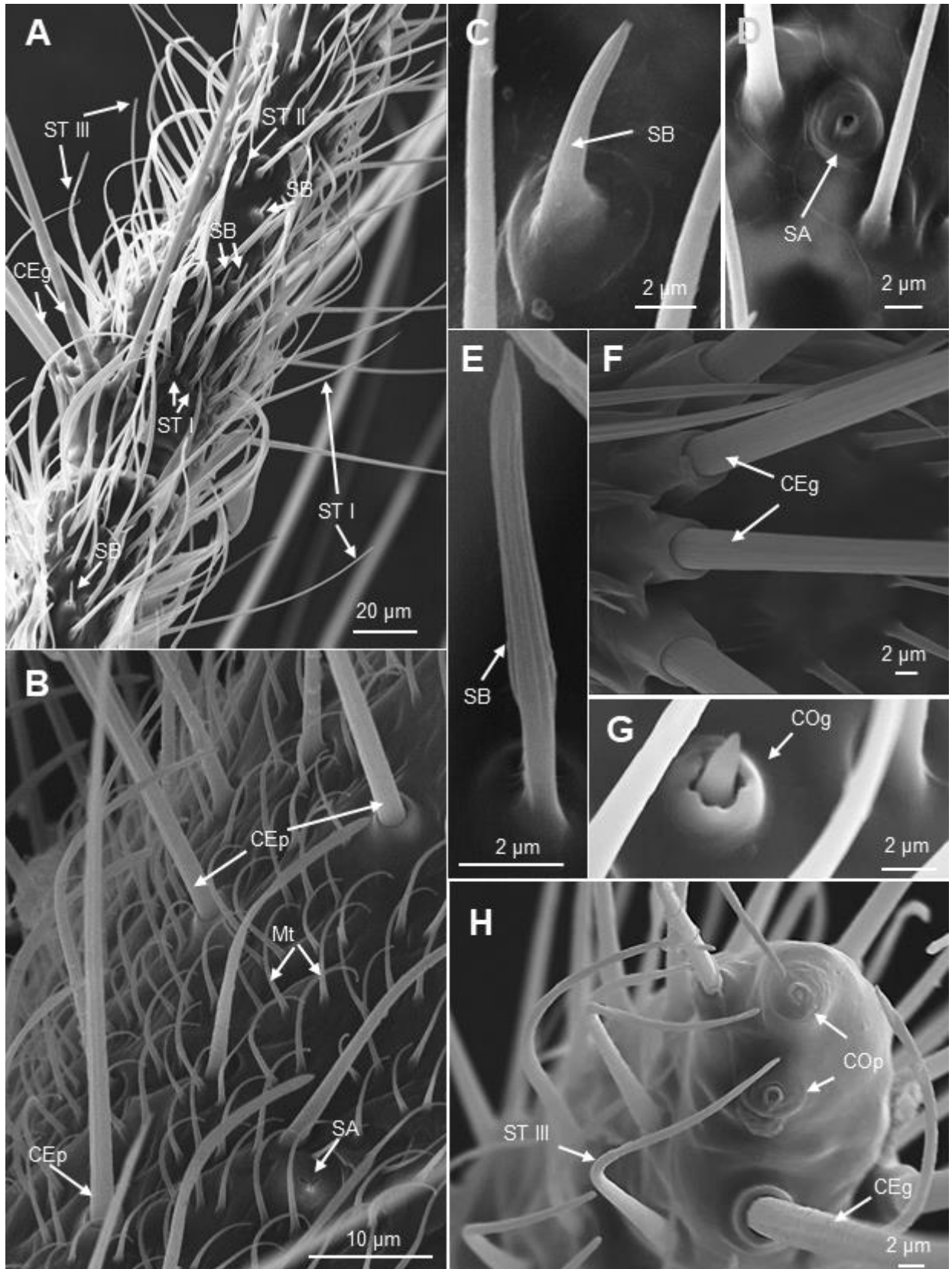


Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura de fragmentos do flagelo em fêmeas de *T. theobaldi*, 4º e 5º segmentos do flagelo (A), 1º segmento (B), segmento distal (12º) do flagelo (C), 11º segmento do flagelo (D), 4º flagelômero (E), interseção entre dois

flagelômeros (F), 2º flagelômero (G) e ápice do 13º flagelômero (H), mostrando os diferentes tipos de sensilas encontradas; tricoide (tipos ST I ao III), cética grande (CEg) e pequena (CEp), celocônica pequena (COp) e grande (Cog), basicônica (SB) e ampulácea (SA).

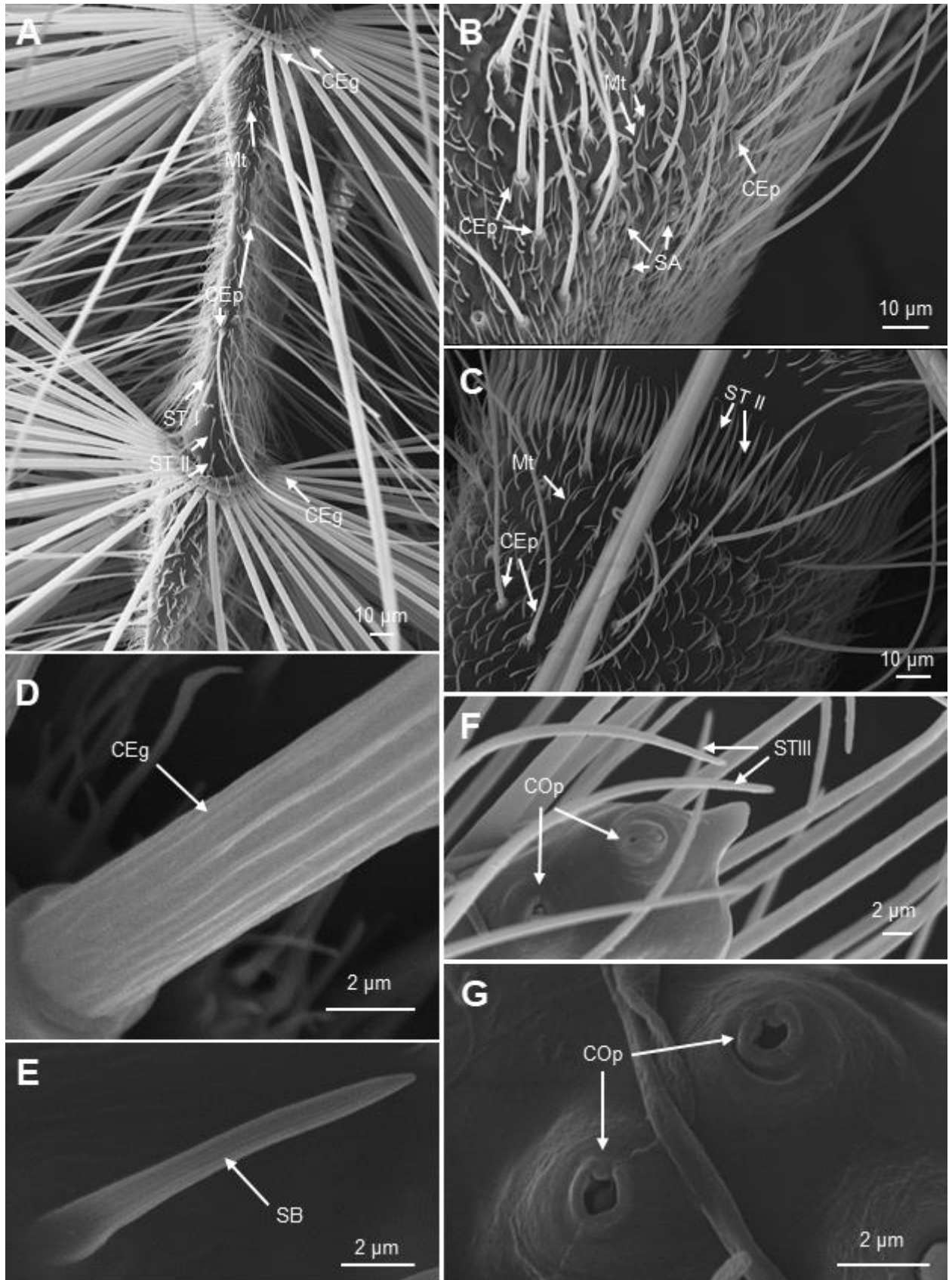


Figura 4. Microscopia eletrônica de varredura de fragmentos do flagelo em machos de *T. theobaldi*, 3º e 4º segmentos proximais do flagelo (A), 1º flagelômero (B), interseção de dois flagelômeros (C e D), 4º flagelômero (E) e ápice do 14º flagelômero

de *T. theobaldi* (F) e *T. violaceus* (G) mostrando os diferentes tipos de sensilas encontradas; tricoide (tipos ST I ao III), cética grande (CEg) e pequena (CEp), celocônica (COp), basicônica (SB) e ampulácea (SA).

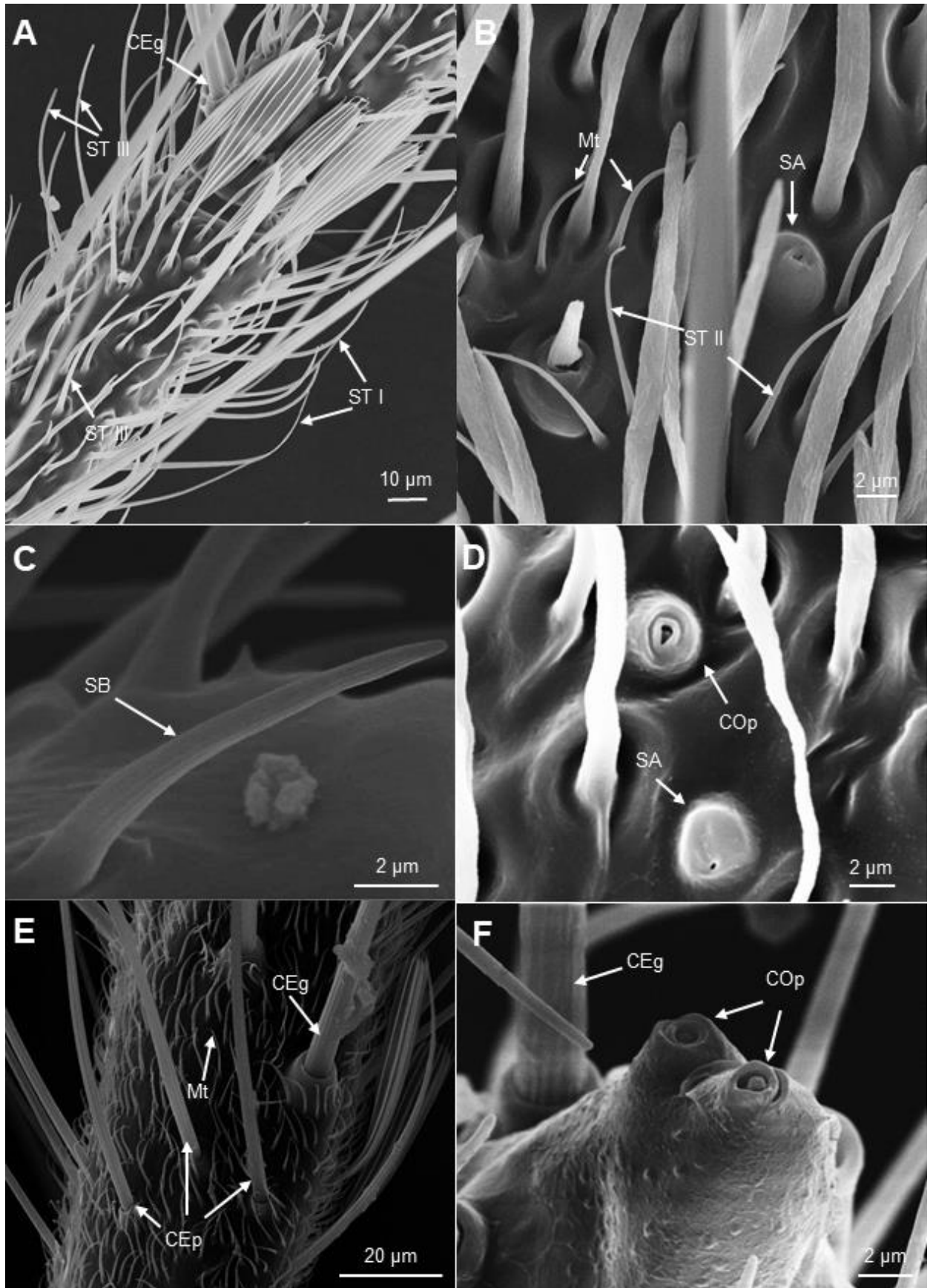


Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura de fragmentos do flagelo em fêmeas de *T. violaceus*, transição do 5º e 6º segmento (A), segmento intermediário do flagelo (B,

D), 1º segmento (C), 2º flagelômero (E) e segmento distal (13º) do flagelo (F) mostrando os diferentes tipos de sensilas encontradas; tricoide (tipos ST I ao III), cética grande (CEg) e pequena (CEp), celocônica (COp), basicônica (SB) e ampulácea (SA).

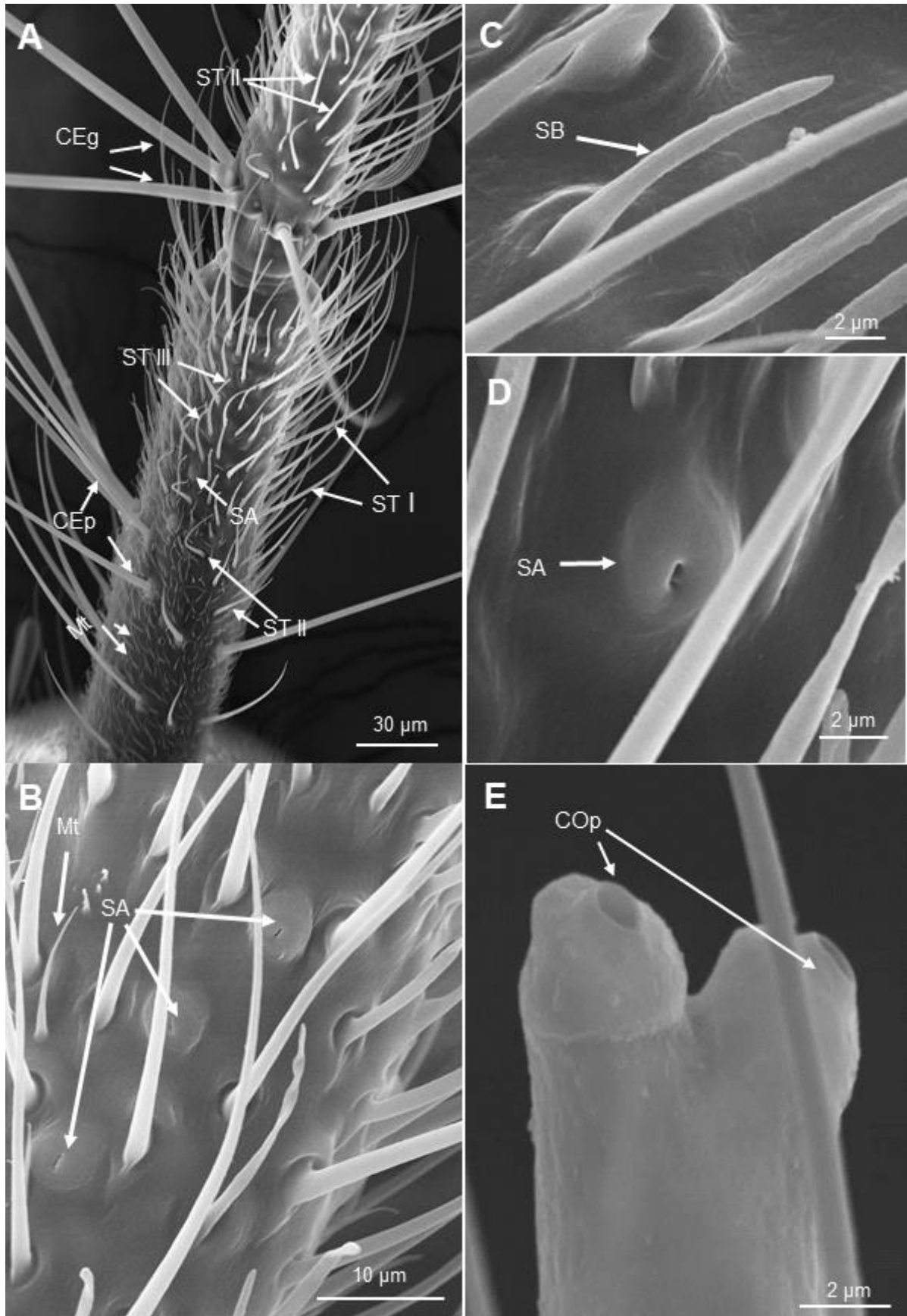


Figura 6. Microscopia eletrônica de varredura de fragmentos do flagelo em fêmeas de *C. bigoti*, 1º e 2º segmentos proximais de flagelo (A), 1º segmento do flagelo (B, C e

D), segmento distal (13º) do flagelo (E) mostrando os diferentes tipos de sensilas encontradas; tricoide (tipos ST I ao III), cética grande (CEg) e pequena (CEp), celocônica (COp), basicônica (SB) e ampulácea (SA).

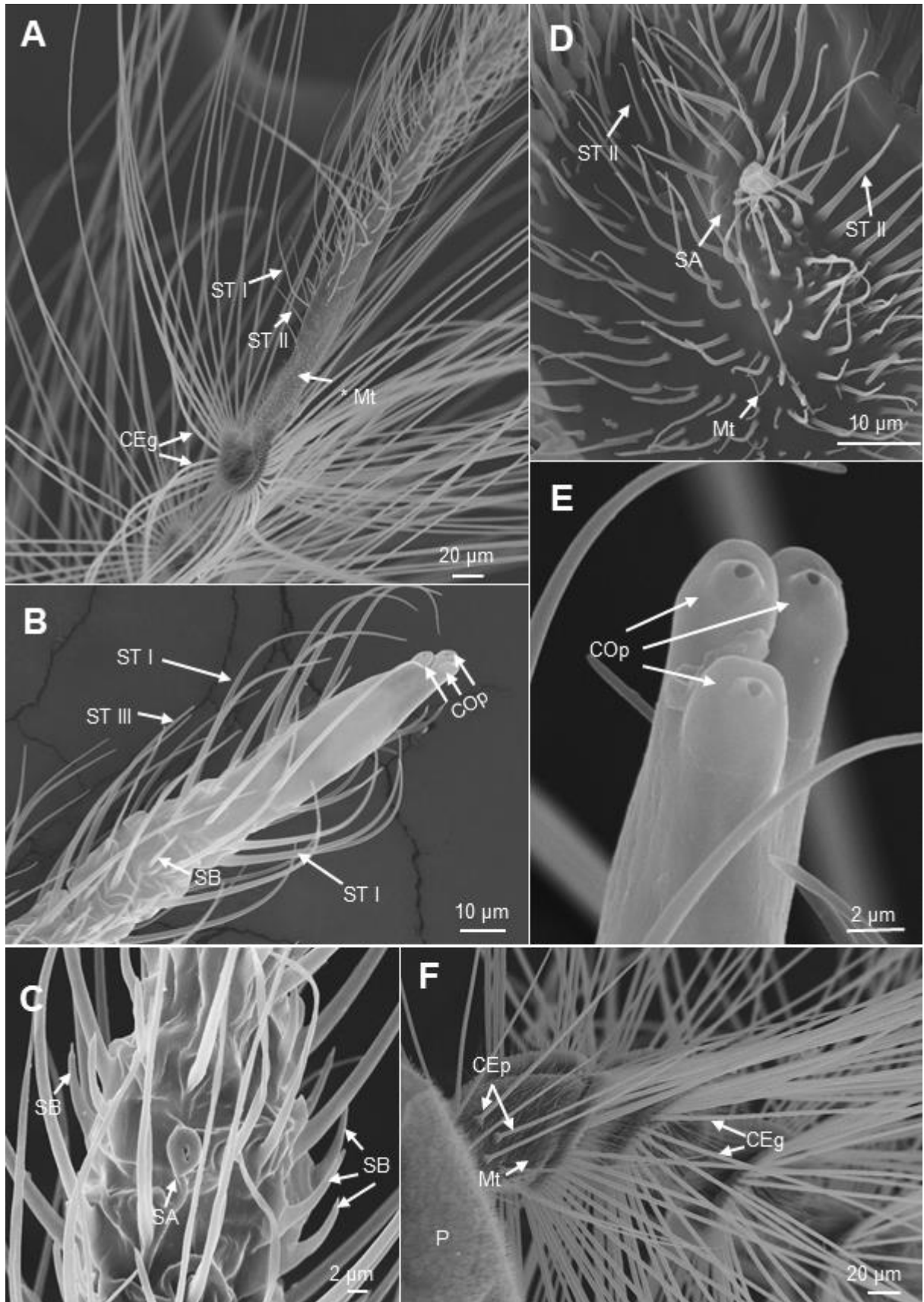


Figura 7. Microscopia eletrônica de varredura de fragmentos do flagelo em machos de *C. bigoti*, 12^o e 13^o segmentos do flagelo (A), ápice do 14^o flagelômero (B e E),

porção média do 14º flagelômero (C), interseção entre 1º e 2º flagelômero (D) e parte do pedicelo (P) e primeiros flagelômeros (F) mostrando os diferentes tipos de sensilas encontradas; tricoide (tipos ST I ao III), cética grande (CEg) e pequena (CEp), celocônica (COp), basicônica (SB) e ampulácea (SA).

Tabela 1. Resumo das características das sensilas encontradas em machos e fêmeas de *T. theobaldi*, *T. violaceus* e *C. bigoti*

Sensila	<i>T. theobaldi</i> fêmea	<i>T. theobaldi</i> macho	<i>T. violaceus</i> fêmea	<i>T. violaceus</i> macho	<i>C. bigoti</i> fêmea	<i>C. bigoti</i> macho
Tricoide I (STI)	Longas de ponta fina	Longas de ponta fina	Longas de ponta fina	Longas de ponta fina	Longas de ponta fina. Menor quantidade no 1º flagelômero	Longas de ponta fina
Tricoide II (STII)	Mais curtas e finas	Mais curtas e finas Circundam interseções entre dois flagelômeros	Mais curtas e finas	Mais curtas e finas Circundam interseções entre dois flagelômeros	Mais curtas e finas	Mais curtas e finas Circundam interseções entre dois flagelômeros
Tricoide III (STIII)	Longas de ponta arredondada					
Cética grande (CEg)	Longas e grossas, situadas entorno do eixo dos flagelômeros					
Cética pequena (CEp)	Longas e menos grossas, situada entorno do eixo e dispersas no 1º flagelômero					Longas e menos grossas, entorno do eixo e dispersas no 1º flagelômero
Celocônica grande (Cog)	Um exemplar; se projeta para além da borda superfície	Ausente				
Celocônica pequena (COp)	Pequena abertura; duas na ponta do flagelo				Pequena abertura; duas na ponta do flagelo; proeminentes	Pequena abertura; três na ponta do flagelo; proeminente
Basicônica (SB)	Semelhante a espinho ou garra cônica ou retilínea	Semelhante a espinho ou garra cônica				
Ampulácea (SA)	Abertura apical estreita ou em fenda; concentrada no 1º flagelômero					

5. DISCUSSÃO

No presente estudo foi identificado e descrito, por meio da MEV, a morfologia externa das antenas de três espécies de mosquitos e das sensilas presentes nos flagelos antenais. *T. theobaldi*, *T. violaceus* e *C. bigoti* são predadores enquanto larvas, porém, enquanto que os adultos possuem hábitos alimentares, sendo os *Toxorhynchites* exclusivamente fitófagos (Donald, *et al.* 2020) e *C. bigoti* com fêmeas supostamente hematófagas (Berti *et al.*, 2009). Uma análise preliminar do intestino médio de fêmeas de *C. bigoti* indica que elas são hematófagas, possuindo intestino médio posterior dilatado, como outras fêmeas do gênero *Culex* (Houk, 1977; Okuda *et al.*, 2002).

As antenas dos machos e fêmeas estão presas à cabeça pelo escapo (E), seguido pelo pedicelo (P) e flagelo (F). O flagelo é subdividido em segmentos chamados de flagelômeros (Gullan *et al.*, 2007; Hempolchom *et al.*, 2017).

As três espécies possuem antenas sexualmente dimórficas, divergindo tanto no tipo de antena quanto o número de flagelômeros. A quantidade e o comprimento de algumas sensilas presentes nas antenas dos machos são visualmente maiores em relação às observadas em fêmeas, o que pode ser explicado pela necessidade do macho ter uma área sensível maior nas antenas para o reconhecimento da fêmea, após contato, por meio de estímulo por feromônio sexual ou de agregação, pelos machos que desencadeiam o deslocamento para a cópula (Nijhout e Craig, 1971; Oliva *et al.*, 2014; Williams *et al.*, 2022), além da localização da fêmea por meio de resposta aos sons dos batimentos das asas (Belton, 1994; Oliva *et al.*, 2014) ou compostos voláteis (Wang *et al.*, 2019).

Apesar do dimorfismo, em ambos os sexos estão presentes os mesmos tipos básicos de sensilas encontradas em adultos de outras espécies de mosquitos (McIver, 1982). Parte disso pode estar ligada ao fato de que tanto mosquitos machos quanto fêmeas necessitam de néctar como fonte de carboidratos e respondem a semioquímicos que são liberados pelas plantas (Otienoburu *et al.*, 2012; Lahondère *et al.*, 2020), assim como ao calor e ao CO₂ proveniente da respiração floral das plantas também pode atrair os mosquitos como fonte de néctar (Peach e Gries, 2020). No caso das fêmeas de mosquitos hematófagos, os machos também podem

responder aos mesmos odores do hospedeiro animal que as fêmeas em busca de sangue, onde podem encontrá-las e acasalarem (Carraretto *et al.*, 2022).

Os tipos de sensilas identificados nas espécies aqui estudadas foram: sensila tricoide (ST), com três subtipos (STI a STIII), cética grande (CEg) e pequena (CEp), celocônica grande (COg) e pequena (COp), basicônica (SB) e ampulácea (SA). Estes tipos básicos de sensilas foram também observadas nas antenas de outras espécies de mosquitos adultos como, *Anopheles gambiae*, *Anopheles quadriannulatus*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*. O primeiro flagelômero possui a maior diversidade de sensilas, observação de acordo com o encontrado em outras espécies (McIver *et al.*, 1982; Pitts e Zweiebel, 2006; Dhanalakshmi *et al.*, 2018).

As ST foram as mais numerosas, e distribuídas ao longo de todo o flagelo, assim como o encontrado em outros Diptera (McIver, 1982; Pitts e Zweiebel, 2006; Ibrahim *et al.*, 2018; Fernandes *et al.*, 2020; Bahia *et al.*, 2021). Três subtipos de ST encontrados nas três espécies aqui estudadas também estão presentes em fêmeas de *A. aegypti* (McIver, 1978). Porém, há uma diferença na classificação. Em *A. aegypti* os subtipos são quatro, classificados como ST longa e curta de ponta fina e curta com ponta arredondada tipo I e tipo II. Nas três espécies aqui estudadas não foram identificadas ST curtas com ponta arredondada. Polimorfismo de ST também foi descrito no flebotomíneo *Nyssomyia intermedia* (Diptera: Psychodidae) (Fernandes *et al.*, 2020). Nesta espécie, há sete subtipos de ST ao longo do flagelo, variando em espessura, formato da ponta, proeminência e flexibilidade da base. Já *Gephyraululus lycantha* (Diptera: Cecidomyiidae) uma mosca fitófaga, aparentemente apresenta apenas um tipo de ST (Zhang *et al.*, 2021). Devido às ST terem características morfológicas comumente encontradas em receptores olfativos (McIver, 1978), pode ser que a variedade de subtipos esteja associada aos diferentes produtos químicos a serem detectados, como em espécies que a fêmeas liberam feromônios sexuais ou até mesmo em algumas espécies de insetos em que a ST também tem a função gustativa (Zhang *et al.*, 2021). Em *Toxotrypana curvicauda* (Gerstaecker) (Diptera), espécie fitófaga, a função das ST parece estar ligada a detecção de voláteis da planta hospedeira e percepção de feromônios sexuais (Arzuffi *et al.*, 2008).

Sensilas longas e de ponta fina como as STI respondem à uma variedade de estímulos olfativos (Steward e Atwood, 1963). No entanto, dos quatorze compostos odoríferos descritos como sinais voláteis de hospedeiro vertebrado, ou associados a locais de oviposição para *A. aegypti*, nenhum induziu qualquer resposta nos

receptores olfativos tanto em STI quanto em STII (Siju *et al.*, 2010). Pode ser que tais sensilas sejam responsáveis pela quimiorrecepção de produtos provenientes de plantas (Peach e Gries, 2020), sendo uma propriedade comum entre as espécies, já que necessitam da busca por plantas para alimentação, (apresentando comportamento hematofágico ou não) (Stone *et al.*, 2011), reprodução ou oviposição (Nyasembe e Torto, 2014).

Os receptores olfativos presentes em ST II de ponta arredondada de *A. aegypti* são sensíveis a estímulos liberados por potenciais locais de oviposição, após a alimentação com sangue (Siju *et al.*, 2010), tipo de alimentação ausente em *Toxorhynchites*. As ST II estão ausentes nas fêmeas de *C. bigoti*, sugerindo que talvez outro tipo de sensila pode estar envolvida para exercer as funções das ST II encontradas em outras espécies.

As CE, mecanorreceptoras, também foram encontradas em adultos de *A. aegypti* (McIver, 1972; McIver, 1982), *Culex pipiens* (Ibrahim *et al.*, 2018) e *Anopheles* (Hempolchom *et al.*, 2018), com subtipos, morfologia e distribuição semelhantes. Fernandes *et al.*, (2008; 2020) relataram subtipos morfofuncionais distintos dos comumente encontrados em culicídeos para flebotomíneos adultos, indicando que nos flebotomíneos, as CE são responsáveis pela recepção de estímulos olfativos, como feromônios sexuais, atrativos de oviposição e demais semioquímicos voláteis (Dougherty *et al.*, 1999).

Em *A. aegypti*, a presença de dendritos associados à região proximal das CE, indica que elas respondem a correntes de ar, ajuda a fêmea a se orientar e se manter contra o vento, o que facilita a percepção de estímulos atrativos dos hospedeiros (McIver, 1972; McIver, 1982). Supostamente nos machos, elas também podem funcionar como receptores de fluxo de ar, independentemente do papel de percepção sonora do órgão de Johnston, permitindo a percepção do batimento das asas da fêmea (McIver, 1972). A partir de tais observação, pode-se supor que no caso das espécies aqui estudadas, as CE podem ter um papel semelhante nos respectivos sexos, como se orientar contra o vento facilitando a percepção de estímulos atrativos de fontes de néctar (Peach e Gries, 2020).

O padrão de COp pequenas encontradas nas três espécies, também foi observada em adultos de *A. aegypti* (McIver, 1982), em que comumente se encontra duas sensilas na ponta das antenas de ambos os sexos (Hempolchom *et al.*, 2016; Dhanalakshmi *et al.*, 2018; Ibrahim *et al.*, 2018). Diferente de *A. aegypti*, machos de

C. bigoti, apresentam três COp na ponta de cada antena. Outra diferença é que em ambos os sexos de *C. bigoti*, as COp se projetam da ponta distal do flagelo em relação às COp encontradas nas espécies de *Toxorhynchites* aqui estudadas. Essas COp mais projetadas à frente das antenas também foram observadas em adultos de *Aedes albopictus* (Seenivasagan, 2009). CO encontradas nas pontas das antenas de adultos *Tx. brevipalpis*, ocupavam uma área menor das antenas em comparação com Culicini e Anophelini, sugerindo uma redução funcional desta sensila em mosquitos exclusivamente fitófagos (McIver e Siemicki, 1978).

As COg estão presentes nas antenas das espécies de anofelinos adultos e geralmente ausentes nas antenas de Culicini e Toxorhynchitini (McIver, 1982), entretanto, uma única sensila que se assemelha à COg foi encontrada em uma antena fêmea de *T. theobaldi*. O fato de ter sido encontrada apenas um exemplar em um único espécime, sugere que possa ser processo de má formação de outro tipo de sensila.

As antenas de todos os mosquitos aqui estudados apresentaram SB, encontradas também em mosquitos hematófagos como *A. aegypti*, *C. pipiens* e *Anopheles* (Bowen, 1995; Hempolchom *et al.*, 2018; Ibrahim *et al.*, 2018). Diferenças funcionais entre tipos de SB foram descritas em mosquitos, e existe uma relação entre o comprimento da SB e a resposta da célula receptora em espécies hematófagas a diferentes compostos ligados à atração pelos hospedeiros (Bowen, 1995). Um estudo eletrofisiológico pode ajudar a identificar se a variação de SB em fêmeas de *T. theobaldi*, em comparação com *T. violaceus* e *C. bigoti*, possui apenas diferença morfológica ou morfofuncional.

Nas fêmeas das três espécies, as SB estão presentes ao longo de todo o flagelo. Estudos sobre o tipo, comprimento e quantidade de SB presente das três espécies analisadas, devem ser feitos a fim de analisar respostas eletrofisiológicas a compostos comuns às espécies de acordo com seus hábitos alimentares.

As SA estão presentes nos dois primeiros flagelômeros das três espécies estudadas, assim como nas antenas de ambos os sexos de *A. aegypti* (Boo e McIver 1975), *Culex* (Ibrahim *et al.*, 2018) e *Anopheles* (Jatuwattana *et al.*, 2020), mas ausentes em flebotomíneos (Fernandes *et al.*, 2008 e 2020). Provavelmente esse tipo de sensila está presente na maioria das antenas de culicídeos adultos, e devido a sua semelhança morfológica com a CO, alguns pesquisadores acreditam que as duas tenham a mesma função termorreceptora (McIver, 1982; Hill *et al.*, 2009).

Apesar de terem sido encontradas os mesmos tipos básicos de sensilas antenais nas três espécies de mosquitos, independentemente de seu hábito alimentar durante a fase adulta, se faz necessário estudar a ultraestrutura das sensilas. O MEV foi útil para obter o primeiro levantamento da estrutura externa e distribuição, mas aspectos importantes da inervação e estruturas específicas da modalidade requerem microscopia eletrônica de transmissão para elucidar melhor a estrutura das sensilas quanto à composição celular.

6. CONCLUSÃO

As sensilas encontradas em *T. theobaldi*, *T. violaceus* e *C. bigoti*, espécies predadoras durante a fase larval, são semelhantes entre si, assim como quando comparadas com espécies hematófagas com hábito alimentar larval diferente. Sensilas que parecem ter sido conservadas morfológicamente podem estar envolvidas em comportamentos comuns, como alimentação de néctar, oviposição e busca de parceiro reprodutivo. Compostos químicos compartilhados entre plantas e vertebrados, como CO₂, que exercem função de atrair os mosquitos, indicam diferentes recursos para ambos os hospedeiros. Essa sobreposição nas pistas que os mosquitos utilizam para localizar sua fonte de alimento, plantas e vertebrados, pode ter sido um fator contribuinte para a mudança da fitofagia, presente em mosquitos ancestrais, para a hematofagia (Peach e Gries, 2020).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alonso-Palomares, L. A., *et al.* Molecular basis for Arbovirus transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. *Intervirology* 61.6 (2018): 255-264.

Altner, H., and Loftus, R. Ultrastructure and function of insect thermo-and hygrosensors. *Annual review of entomology* 30.1 (1985): 273-295.

Andrade, D. C., and Corte, R. *Toxorhynchites* (Lynchiella) *caatingensis* sp. nov. (Diptera: Culicidae) from the semi-arid region of Brazil. *Zootaxa* 5072.2 (2021): 130-144.

Arzuffi, R., Robledo, N., and Valdez, J. Antennal sensilla of *Toxotrypana curvicauda* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 91.4 (2008): 669-673.

Bahia, A. C., et al. Morphological Characterization of the Antennal Sensilla of the Afrotropical Sand Fly, *Phlebotomus duboscqi* (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology* 58.2 (2021): 634-645.

Bellamy, S. K., and Alto, B. W. Mosquito responses to trait-and density-mediated interactions of predation. *Oecologia* 187.1 (2018): 233-243.

Belton, P. Attraction of male mosquitoes to sound. *Journal of the American Mosquito Control Association* 10 (1994): 297-301.

Berti, M., J., et al. Primer registro para el estado Bolívar de *Culex (Lutzia) bigoti* Bellardi, 1862 (Diptera: Culicidae). *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 49.2 (2009): 313-315.

Boo, K. S., and McIver, S. B. Fine structure of sunken thick-walled pegs (sensilla ampullacea and coeloconica) on the antennae of mosquitoes. *Canadian Journal of Zoology* 53.3 (1975): 262-266.

Bowen, M. F. Sensilla basiconica (grooved pegs) on the antennae of female mosquitoes: electrophysiology and morphology. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 77.2 (1995): 233-238.

Carraretto, D., et al. Behavioural Responses of Male *Aedes albopictus* to Different Volatile Chemical Compounds. *Insects* 13.3 (2022): 290.

Chapman R.F. *The Insects Structure and Function*, Fourth edition (2013).

Collins, L. E., and Blackwell, A. The biology of *Toxorhynchites* mosquitoes and their potential as biocontrol agents. *Biocontrol News and Information* 21.4 (2000): 105N-116N.

Da Silva, K. B., *et al.* Morfologia e distribuição de sensilas antenais de *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae). *Micron* 123 (2019): 102682.

Davis, E. E., and Sokolove, P. G. Temperature responses of antennal receptors of the mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Comparative Physiology* 96.3 (1975): 223-236.

De Bruyne, M., and Baker, T. C. Odor detection in insects: volatile codes. *Journal of Chemical Ecology* 34.7 (2008): 882-897.

Dhanalakshmi, P., *et al.* Distribution of sensory structures on antennae of female *Culex* mosquito: A SEM study. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6 (2): 1900-1903 (2018).

Diakova, A. V., Makarova, A. A., and Polilov, A. A. Between extreme simplification and ideal optimization: antennal sensilla morphology of miniaturized *Megaphragma* wasps (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *PeerJ* 6 (2018): e6005.

Di Palma, A. *et al.* Scanning electron microscopy of the antennal sensilla and their secretion analysis in adults of *Aromia bungii* (Faldermann, 1835) (Coleoptera, Cerambycidae). *Insects* 10,4 88 (2019).

Donald, C. L., Siriyasatien, P., and Kohl, A. *Toxorhynchites* species: a review of current knowledge. *Insects* 11.11 (2020): 747.

Dougherty, M. J., *et al.* Behavioural and electrophysiological responses of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) when exposed to canid host odour kairomones. *Physiological Entomology* 24.3 (1999): 251-262.

Faucheux, M. J., Kristensen, N. P., and Yen, S. H. The antennae of neopseustid moths: morphology and phylogenetic implications, with special reference to the sensilla (Insecta, Lepidoptera, Neopseustidae). *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology* 245.2 (2006): 131-142.

Fernandes, F. D. F., *et al.* Fine structure and distribution pattern of antennal sensilla of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sand flies. *Journal of Medical Entomology* 45.6 (2008): 982-990.

Fernandes, F. D. F., *et al.* Ultrastructure of the antennae and sensilla of *Nyssomyia intermedia* (Diptera: Psychodidae), vector of American cutaneous leishmaniasis. *Journal of Medical Entomology* 57.6 (2020): 1722-1734.

Focks, D. A. *Toxorhynchites* as biocontrol agents. *Journal of the American Mosquito Control Association* 23.sp2 (2007): 118-127.

Gullan, P. J., *et al.* Os insetos: um resumo de entomologia. Roca. (2007).

Hallberg, E., and Hansson, B. S. Arthropod sensilla: morphology and phylogenetic considerations. *Microscopy Research and Technique* 47.6 (1999): 428-439.

Hallberg, E., Hansson, B. S., and Löfstedt, C. 10. *Sensilla and Proprioceptors*. Vol 2: Morphology, Physiology, and Development 4 (2012): 267.

Hansson, B. S., and Stensmyr, M. C. Evolution of insect olfaction. *Neuron* 72.5 (2011): 698-711.

Harbach, R. E. Culicidae classification. *Mosquito taxonomic inventory*. (2008).

Harbach, R.E. Culicidae classification. *Lutzia* Theobald, 1903. *Mosquito Taxonomic Inventory*. (2008)

Harbach, R.E. "Valid species." *Mosquito Taxonomic Inventory*. (2021)

Hempolchom, C., *et al.* Scanning electron microscopy of antennal sensilla of the eight *Anopheles* species of the *Hyrceanus* Group (Diptera: Culicidae) in Thailand. *Parasitology Research* 116.1 (2017): 143-153.

Hill, S. R., Hansson, B. S., and Ignell, R. Characterization of antennal trichoid sensilla from female southern house mosquito, *Culex quinquefasciatus* Say. *Chemical Senses* 34.3 (2009): 231-252.

Houk, E. J. Midgut ultrastructure of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) before and after a bloodmeal. *Tissue and Cell* 9.1 (1977): 103-118.

Ibrahim, H. A., Sawires, S. G., and Hamza, A. F. Morphological characterization and distribution of antennal sensilla of irradiated female mosquito, *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) with gamma radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 11.4 (2018): 291-298.

Jatuwattana, W., *et al.* Systematic studies of *Anopheles* (*Cellia*) *kochi* (Diptera: Culicidae): Morphology, cytogenetics, cross-mating experiments, molecular evidence and susceptibility level to infection with nocturnally subperiodic *Brugia malayi*. *Acta Tropica* 205 (2020): 105300.

Jez, D. H., and MCIVER, S. B. Fine structure of antennal sensilla of larval *Toxorhynchites brevipalpis* Theobald (Diptera: Culicidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 9.2 (1980): 147-159.

Kristensen, N. P., and Kristensen, N. P. Skeleton and muscles: adults. *Handbook of Zoology IV. Lepidoptera, moths and butterflies* 2 (2003): 39-131.

Lahondère, C., *et al.* The olfactory basis of orchid pollination by mosquitoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117.1 (2020): 708-716.

Lopes, J. Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do norte do Paraná, Brasil: VIII. Influência das larvas predadoras (*Toxorhynchites* sp., *Limatus durhamiie* e *Culex bigoti*) sobre a população de larvas de *Culex quinquefasciatus* e *Culex eduardoi*. *Revista Brasileira de Zoologia* 16.3 (1999): 821-826.

Marshall, D. S., and Butler, C. J. potential distribution of the biocontrol agent *Toxorhynchites rutilus* by 2070. *Journal of the American Mosquito Control Association* 36.3 (2020): 131-138.

Mclver, S. B. Fine structure of antennal grooved pegs of the mosquito, *Aedes aegypti*. *Cell and Tissue Research* 153.3 (1974): 327-337.

Mclver, S. B. Fine structure of the sensilla chaetica on the antennae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 65.6 (1972): 1390-1397.

Mclver, S. B. Sensilla of mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 19.5 (1982): 489-535.

Mclver, S. B. Structure of sensilla trichodea of female *Aedes aegypti* with comments on innervation of antennal sensilla. *Journal of Insect Physiology* 24.5 (1978): 383-390.

Medeiros-Sousa, A. R., et al. Biodiversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) nos parques da cidade de São Paulo I. *Biota Neotropica* 13 (2013): 317-321.

Nijhout, H. F., and Craig Jr, G. B. Reproductive isolation in *Stegomyia* mosquitoes. III Evidence for a sexual pheromone. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 14.4 (1971): 399-412.

Nyasembe, V. O., and Torto, B. Volatile phytochemicals as mosquito semiochemicals. *Phytochemistry Letters* 8 (2014): 196-201.

Okuda, K., et al. Functional morphology of adult female *Culex quinquefasciatus* midgut during blood digestion. *Tissue and Cell* 34.3 (2002): 210-219.

Oliva, C. F., Damiens, D., and Benedict, M. Q. Male reproductive biology of *Aedes* mosquitoes. *Acta Tropica* 132 (2014): S12-S19.

Otienoburu, P. E., *et al.* Analysis and optimization of a synthetic milkweed floral attractant for mosquitoes. *Journal of Chemical Ecology* 38.7 (2012): 873-881.

Peach, D. A., and Gries, G. Mosquito phytophagy—sources exploited, ecological function, and evolutionary transition to haematophagy. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 168.2 (2020): 120-136.

Pérez-Santiago, G. *et al.* Potencial de depredación de *Lutzia bigoti* sobre larvas de *Aedes aegypti*. *Entomología Mexicana* 6 (2019): 118-122.

Pinto, L. D. C. As sensilas antenais de flebotomíneos vetores de leishmanioses. (2009). xiii, 121. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro– 2009.

Pitts, R. J., and Zwiebel, L. J. Antennal sensilla of two female anopheline sibling species with differing host ranges. *Malaria Journal* 5.1 (2006): 1-12.

Rivera-Pérez, C., Clifton, M. E., and Noriega, F. G. How micronutrients influence the physiology of mosquitoes. *Current opinion in insect science* 23 (2017): 112-117.

Schneider, D. Insect antennae. *Annual Review of Entomology* 9.1 (1964): 103-122.

Seenivasagan, T., *et al.* Surface morphology and morphometric analysis of sensilla of Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus* (Skuse): an SEM investigation. *Journal of Vector Borne Diseases* 46.2 (2009): 125.

Siju, K. P., *et al.* Influence of blood meal on the responsiveness of olfactory receptor neurons in antennal sensilla trichodea of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology* 56.6 (2010): 659-665.

Simões, D. A. Occurrence of *Toxorhynchites* (Diptera: Culicidae) in the Atlantic Forest at Viçosa, MG, and predation of *T. vilolaceus* on *Aedes aegypti* larvae. 2008. 56 f. Dissertação (Mestrado em Biologia e Manejo animal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

Syed, Z., and Leal, W. S. Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106.44 (2009): 18803-18808.

Steward, C. C., and Atwood, C. E. The sensory organs of the mosquito antenna. *Canadian Journal of Zoology* 41.4 (1963): 577-594.

Stone, C. M., Hamilton, I. M., and Foster, W. A. A survival and reproduction trade-off is resolved in accordance with resource availability by virgin female mosquitoes. *Animal Behaviour* 81.4 (2011): 765-774.

Stone, C. M., *et al.* Would the control of invasive alien plants reduce malaria transmission? A review. *Parasites & Vectors* 11.1 (2018): 1-18.

Takken, W., and Verhulst, N. O. Host preferences of blood-feeding mosquitoes. *Annual Review of Entomology* 58 (2013): 433-453.

Walbrink, M. C. Diferenças morfológicas das sensilas em vespas da família polistinea. *Repositório Institucional - Rede Paraná Acervo* (2019).

Wang, F., *et al.* Cartography of odor chemicals in the dengue vector mosquito (*Aedes aegypti* L., Diptera/Culicidae). *Scientific Reports* 9.1 (2019): 1-10.

Watts, R. B., and Smith, S. M. Oogenesis in *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae). *Canadian Journal of Zoology* 56.1 (1978): 136-139.

Williams, A. T., Verhulst, E. C., and Haverkamp, A. A unique sense of smell: development and evolution of a sexually dimorphic antennal lobe—a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata* (2022).

Wolff, G. H., and Riffell, J. A. Olfaction, experience and neural mechanisms underlying mosquito host preference. *Journal of Experimental Biology* 221.4 (2018): jeb157131.

Wrbu. The Walter Reed Biosystematics Unit (2014).

Zacharuk, R. Y. *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. New York: Pergamon Press 6 (1985): 1-69.

Zhang, F., *et al.* Morphology and distribution of antennal sensilla in the gall midge *Gephyraulius lycantha* (Diptera: Cecidomyiidae). *Micron* 145 (2021): 103061.

Zwiebel, L. J., and Takken. W. Olfactory regulation of mosquito–host interactions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34.7 (2004): 645-652.