



Nanotopografias hierárquicas das superfícies das asas de duas espécies do mosquito *Anopheles*.

Leandro C. C. Pinto¹, Ricardo C. S. Filho¹, Dra. Glenda Q. Ramos², Dr. Henrique D. F. Filho¹.

¹Universidade Federal do Amazonas, Laboratório de Desenvolvimento e Aplicações de Nanomateriais da Amazônia, Av. Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 6200, Coroado I, 69080-900, Manaus AM, Brasil.

²Centro Multiusuário para Análise de Fenômenos Biomédicos da Universidade do Estado do Amazonas (CMABio-UEA), Universidade do Estado do Amazonas, Manaus 69.065-001, Amazonas, Brasil.

Palavras-Chave: Nanoestrutura; Asa de mosquito; Microscopia de Força Atômica; Topografia; Superfície.

Introdução

Os insetos constituem um grupo altamente diversificado, com importância biológica significativa em vários ambientes. O estudo morfológico dos insetos desempenha um papel fundamental na identificação taxonômica (Gyawali et al., 2025; Wootton, 1992), bem como na compreensão da sua relação com fatores ambientais. As asas dos insetos apresentam uma arquitetura sofisticada e funcional (Wootton, 1992), que, além de permitir o voo, também desempenha funções na regulação térmica (Guillermo-Ferreira e Gorb, 2021), propriedades óticas (Krishna et al., 2021), mecanismos de defesa (Ivanova et al., 2021; Pogodin et al., 2013) e interações interespecíficas (Lehmann et al., 2005; Machado et al., 2024). Para investigar essas estruturas complexas foram utilizadas as técnicas de microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A primeira permite a geração de imagens tridimensionais da superfície, facilitando a detecção de variações na altura, rugosidade da superfície e propriedades mecânicas, como elasticidade e dureza (Allison et al., 2010). No Brasil, *Anopheles aquasalis* e *Anopheles darlingi* são os principais vetores do *Plasmodium* nas regiões costeira e amazônica, respectivamente (Pimenta et al., 2015). Considerando a importância biológica dos mosquitos, especialmente o seu papel epidemiológico como vetores de doenças infecciosas, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a micromorfologia da superfície das asas do *Anopheles darlingi* e do *Anopheles aquasalis*, dois dos principais vetores da malária no Brasil. Para isso, foram utilizadas a AFM para obter dados morfológicos de alta resolução. Os resultados têm como objetivo avançar na compreensão da morfologia funcional das asas dos mosquitos e fornecer novas perspectivas para a pesquisa entomológica relacionada aos papéis físicos e ecológicos dessas estruturas superficiais.

Material e Métodos

Os mosquitos *An. aquasalis* e *An. darlingi* foram criados numa colônia bem estabelecida na Unidade de Entomologia Nelson Ferreira Fé. As colônias foram mantidas a 24–26°C e umidade relativa sob um fotoperíodo de 12/12h luz/escuridão. As larvas foram alimentadas com ração comercial para peixes (Tetramin Gold®; Tetra GmbH, Melle, Alemanha) e os adultos foram alimentados com ad libitum com solução de açúcar a 10%. Foram utilizadas fêmeas de mosquitos com 3 dias de idade. Para a coleta das asas, os mosquitos foram congelados e as suas asas foram cuidadosamente removidas com uma pinça. As asas foram fixadas em fita adesiva dupla-

face de carbono com orientações dorsal (D) e ventral (V). Para as medidas de MEV, as amostras foram revestidas com ouro. Para realizar a medição utilizando AFM, as lâminas de vidro contendo as asas foram colocadas num suporte de amostras utilizando fita adesiva dupla-face. As amostras foram rotuladas como D-Aa, V-Aa, D-Ad e V-Ad, com três amostras de cada superfície. Assim, quatro imagens de cada amostra usando (2,5×2,5) μm^2 com (512×512) pixels.

Resultados e Discussão

A Fig. 1 fornece uma visão geral em alta resolução da morfologia da superfície da asa de um espécime fêmea de *Anopheles* capturado por MEV.

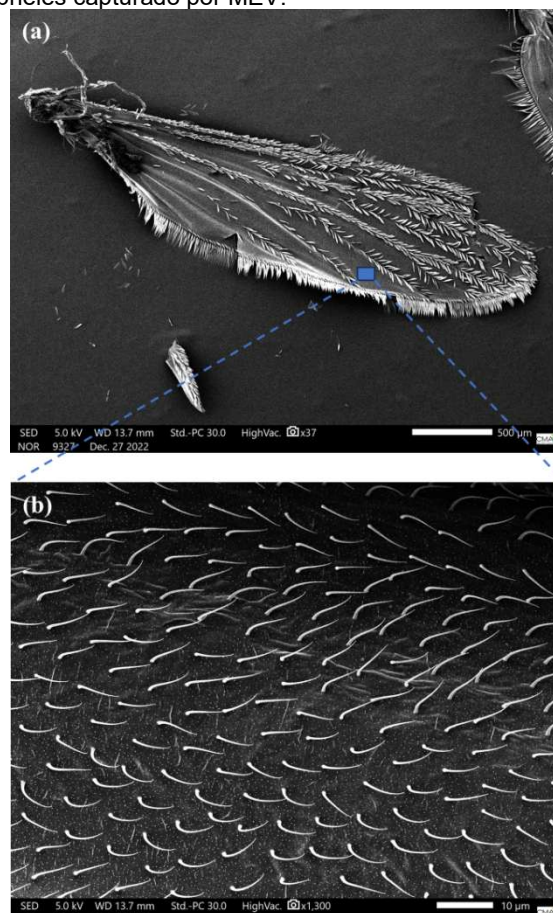


Figura 1: Imagens de MEV da asa do mosquito: (a) asa inteira em baixa ampliação (x37) e (b) ampliação (x1300) da região representada pelo quadrado azul em (a).

Esta figura estabelece uma linha de base morfológica essencial para interpretar os dados topográficos subsequentes obtidos por microscopia de força atômica. Ao ampliar a região destacada em azul, a imagem de MEV revela um arranjo denso e organizado de pêlos distribuídos pela membrana da asa. Demonstrou-se que essa ornamentação nanoestrutural da superfície confere propriedades hidrofóbicas, reduzindo a molhabilidade das asas em ambientes úmidos, uma vantagem para os vetores que habitam zonas tropicais e costeiras (Byun et al., 2009).

A fig. 2 mostra imagens de AFM de alta resolução que forneceram uma caracterização topográfica tridimensional detalhada das superfícies das asas investigadas de *An. aquasalis* e *An. darlingi*. Os mapas topográficos 3D da superfície das asas na Fig. 2(a-d), revelam diferenças claras entre e dentro das espécies na topografia da superfície. Notavelmente, a superfície ventral do *An. darlingi* (V-Ad) exibe a arquitetura de superfície mais complexa, com uma distribuição densa de picos e vales, em contraste com as superfícies dorsal (D-Aa) e ventral (V-Aa) relativamente mais lisas do *An. aquasalis*. Os perfis de linha derivados das imagens AFM (Fig. 2e) oferecem uma visão quantitativa da variação das alturas da superfície.

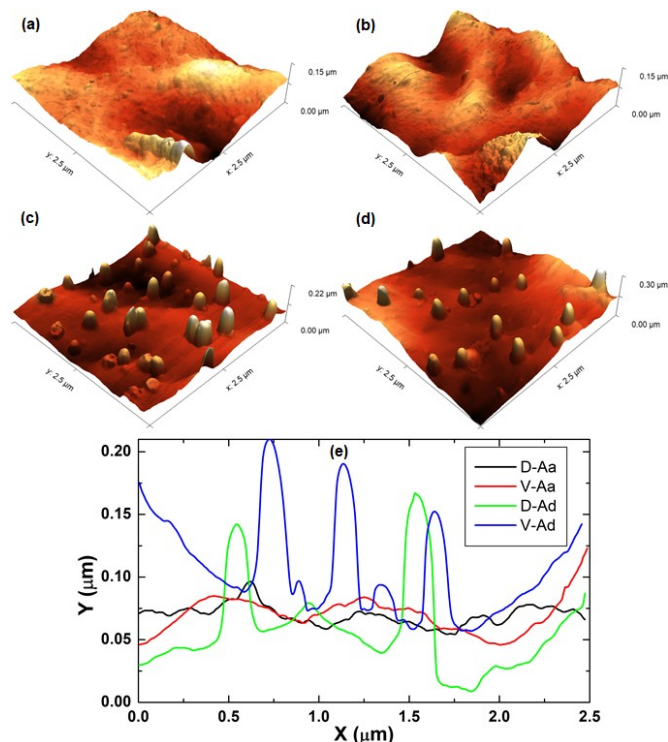


Figura 2: Mapas topográficos 3D de AFM das asas: (a) lados D-Aa, (b) V-Aa, (c) D-Ad e (d) V-Ad. (e) Perfis da linha mostrada nas imagens AFM.

Conclusões

Neste trabalho imagens de microscopia eletrônica de varredura e de força atômica das asas de *Anopheles darlingi* e *Anopheles aquasalis* revelam morfologias superficiais distintas com potenciais implicações funcionais e ecológicas. As imagens de AFM revelaram diferenças inter e intraespecíficas pronunciadas, com a superfície ventral do *An. darlingi* (V-Ad) apresentando a maior rugosidade ($S_q = 45,34 \pm 3,20$ nm) e amplitude de altura ($S_z = 399,17 \pm 65,46$ nm), em comparação com a superfície dorsal mais lisa do *An. aquasalis* (D-Aa, $S_q = 23,54 \pm 3,47$ nm, $S_z = 157,80 \pm 17,91$ nm). É importante destacar que as análises foram conduzidas em mosquitos criados em colônias, que apresentam estabilização em condições laboratoriais. Portanto, expandir a amostragem para incluir diferentes populações naturais e espécies vetorais adicionais, bem como integrar descobertas

morfológicas com ensaios funcionais, é essencial. Tais abordagens complementares proporcionarão uma compreensão mais profunda de como as variações nanométricas na cutícula influenciam a ecologia do mosquito e a competência vetorial. Além disso, explorar como essas nanoestruturas afetam a dinâmica de voo, a molhabilidade e o desempenho ecológico pode abrir novos caminhos na biologia dos vetores, na morfologia evolutiva e no desenvolvimento de projetos biomiméticos.

Agradecimentos

Ao CNPQ e FAPESP pelo suporte financeiro, e ao Laboratório de Desenvolvimento e Aplicações de Nanomateriais da Amazônia (LADENA) pela disponibilidade de espaço para a realização deste projeto.

Referências

- Gyawali, N., Russell, T.L., Burkot, T.R., Devine, G.J., 2025. A morphological identification key to the mosquito disease vectors of the Pacific. *Austral Entomol.* 64, e70003. <https://doi.org/10.1111/AEN.70003>.
- Wootton, R.J., 1992. Functional morphology of insect wings. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 113–140. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.EN.37.010192.000553/CITE/REFWORKS>.
- Guillermo-Ferreira, R., Gorb, S.N., 2021. Heat-distribution in the body and wings of the morpho dragonfly *zenithoptera lanei* (Anisoptera: Libellulidae) and a possible mechanism of thermoregulation. *Biol. J. Linn. Soc.* 133. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blaa216>.
- Krishna, A., Nie, X., Briscoe, A.D., Lee, J., 2021. Air temperature drives the evolution of mid-infrared optical properties of butterfly wings. *Sci. Rep.* 11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02810-1>.
- Ivanova, E.P., Linklater, D.P., Aburto-Medina, A., Le, P., Baulin, V.A., Khuong Duy Nguyen, H., Curtain, R., Hanssen, E., Gervinskias, G., Hock Ng, S., Khanh Truong, V., Luque, P., Ramm, G., Wosten, H.A.B., Crawford, R.J., Juodkazis, S., Maclaughlin, S., 2021. Antifungal versus antibacterial defence of insect wings. *J. Colloid Interface Sci.* 603, 886–897. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2021.06.093>.
- Pogodin, S., Hasan, J., Baulin, V.A., Webb, H.K., Truong, V.K., Phong Nguyen, T.H., Boshkovikj, V., Fluke, C.J., Watson, G.S., Watson, J.A., Crawford, R.J., Ivanova, E.P., 2013. Biophysical model of bacterial cell interactions with nanopatterned cicada wing surfaces. *Biophys. J.* 104, 835. <https://doi.org/10.1016/J.BPJ.2012.12.046>.
- Lehmann, F.O., Sane, S.P., Dickinson, M., 2005. The aerodynamic effects of wing-wing interaction in flapping insect wings. *J. Exp. Biol.* 208. <https://doi.org/10.1242/jeb.01744>.
- Machado, A.F.P., Camargo, N.F., de Souza, N.B., Nakasu, E.Y.T., Inoue-Nagata, A.K., Togni, P.H.B., 2024. Spread your wings: insect-plant-landscape interactions mediate the wing shape of a multivoltine polyphagous insect. *Oikos* 2024. <https://doi.org/10.1111/oik.10318>.
- Allison, D.P., Mortensen, N.P., Sullivan, C.J., Doktycz, M.J., 2010. Atomic force microscopy of biological samples. *WIREs Nanomed. Nanobiotechnol.* 2, 618–634. <https://doi.org/10.1002/wnan.104>.
- Pimenta, P.F.P., Orfano, A.S., Bahia, A.C., Duarte, A.P.M., Rios-Velasquez, C.M., Melo, F. F., Pessoa, F.A.C., Oliveira, G.A., Campos, K.M.M., Villegas, L.M., Rodrigues, N.B., Nacif-Pimenta, R., Simões, R.C., Monteiro, W.M., Amino, R., Traub-Cseko, Y.M., Lima, J.B.P., Barbosa, M.G.V., Lacerda, M.V.G., Tadei, W.P., Secundino, N.F.C., 2015. An overview of malaria transmission from the perspective of Amazon anopheles vectors. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 110, 23–47. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140266>.
- Byun, D., Hong, J., Saputra, Ko, J.H., Lee, Y.J., Park, H.C., Byun, B.-K., Lukes, J.R., 2009. Wetting characteristics of insect wing surfaces. *J. Bionic Eng.* 6, 63–70. [https://doi.org/10.1016/S1672-6529\(08\)60092-X](https://doi.org/10.1016/S1672-6529(08)60092-X).