

***Aedes albopictus* Skuse, 1884 (Diptera: Culicidae) y culícidos asociados en áreas antropizadas de Belém-PA (Brasil), municipio del este amazónico**

Karen MONTEIRO MOY¹, Ingrid Nazaré GARCIA ROSÁRIO¹, Cinthia HOLANDA DE SOUZA¹, Tatiane RODRIGUES DE OLIVEIRA², Karin KIRCHGATTER³, Ivoneide Maria DA SILVA¹ & Sergio RODRIGUEZ-MÁLAGA¹

1 Laboratório de Biologia de Parasitos e Vetores, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Augusto Corrêa 01, CEP 66075-110, Belém-PA, Brasil.

2 Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Bloco 17, CEP 05508-000, São Paulo-SP, Brasil.

3 Instituto Pasteur, São Paulo 01027-000, SP, Brasil.

Resumen

Correspondencia

S. Rodríguez-Málaga

E-mail: sergiorm@ufpa.br

Recibido: 13 junio 2023

Aceptado: 20 marzo 2024

Publicado on-line: 25 marzo 2024

El primer registro de *Aedes albopictus* en el Estado de Pará, en la Amazonía brasileña, se realizó en 2003. Este estudio tuvo como objetivo describir la fauna de culícidos y la abundancia de *Ae. albopictus* en cuatro áreas con diferentes grados de antropización en la ciudad de Belém-PA. Para ello, se colectaron larvas en criaderos naturales, comprobando que *Ae. albopictus* correspondió al 63,4% de los mosquitos colectados, siendo predominante en las áreas más antropizadas. También conseguimos describir dos haplotipos derivados de secuencias parciales del gen *COI* de 16 mosquitos del área de mayor grado de antropización, los cuales se agrupan con ejemplares de países tropicales y de clima templado, respectivamente. Nuestros resultados demuestran la adaptación de *Ae. albopictus* a las áreas urbanas de la región amazónica.

Palabras clave: gen *COI*; *Aedes albopictus*; Región amazónica.

Abstract

Aedes albopictus Skuse, 1884 (Diptera: Culicidae) and associated culicidae in anthropised areas of Belém-PA (Brazil), a municipality in eastern Amazonia

The first record of *Aedes albopictus* in the State of Pará, in the Brazilian Amazon, was carried out in 2003. The present study aimed to describe the Culicidae fauna and the abundance of *Ae. albopictus* in four areas with different degrees of anthropization, in the city of Belém-PA. For this, larvae were collected in natural breeding sites, proving that *Ae. albopictus* corresponded to 63.4% of the mosquitoes collected, being the predominant species in areas with the highest degree of anthropization. We also identified two haplotypes derived from partial sequences of the *COI* gene of 16 mosquitoes from the area with the greatest degree of anthropology, which are grouped with specimens from tropical and temperate countries, respectively. Our results demonstrate the adaptation of *Ae. albopictus* to urban areas of the Amazon region.

Key words: *COI* gen; *Aedes albopictus*; Amazonian Region.



Introducción

La creciente incidencia mundial de enfermedades emergentes y reemergentes transmitidas por vectores se encuentra entre los principales problemas de salud pública. En este sentido, la tríada epidemiológica de las enfermedades, compuesta por el hospedador, el patógeno y el ambiente, además de diferentes factores abióticos que influyen en la transmisión de agentes infecciosos, ha contribuido al surgimiento y/o incremento de casos de estas patologías (Chala & Hamde 2021). Por ello, la identificación morfológica y molecular de los mosquitos vectores cobra una importancia fundamental para comprender la transmisión y epidemiología de estas afecciones.

Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae), conocido como “mosquito tigre asiático”, es una especie de mosquito invasor de hábitos antropofílicos. Originario de las selvas tropicales del sudeste asiático, ha colonizado con éxito regiones tropicales, subtropicales y de clima templado de todo el mundo, mostrando una alta competencia de vector para, al menos, 22 arbovirus (Fikrig & Harrington 2021). Así, en asociación con *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), esta especie es capaz de transmitir los virus del dengue, chikungunya, Zika y fiebre amarilla (Lwande *et al.* 2020).

Actualmente, *Ae. albopictus* se encuentra en todos los continentes excepto en la Antártida. Esta amplia distribución es resultado del comercio intercontinental, principalmente por el transporte de neumáticos por rutas marítimas (Paupy *et al.* 2009). En Brasil, el primer registro de esta especie fue realizado en 1986, en el municipio de Itaguaí, al sureste del Estado de Río de Janeiro (Forattini 1986), extendiéndose por casi todos los Estados de la Federación Brasileña en años posteriores. En la región norte de Brasil, correspondiente a los Estados de la región Amazónica, el primer registro de esta especie de mosquito se realizó en el año 2003, en el municipio de Medicilândia, en el Estado de Pará (Segura *et al.* 2003).

La exitosa colonización de *Ae. albopictus* en diferentes regiones geográficas se ha atribuido, principalmente a su plasticidad ecológica, lo cual permite que se adapte a diferentes ambientes, a su aptitud competitiva en el estado larvario, su comportamiento alimentario y su capacidad de entrar en diapausa para escapar de condiciones estacionales desfavorables, además de la ausencia de

estrategias de control efectivas para este vector en los países recientemente colonizados por este mosquito (Kamgang *et al.* 2018). En ese sentido, a pesar de que los estudios entomológicos muestren la rápida expansión de *Ae. albopictus* en Brasil y otros países del continente americano (Carvalho *et al.* 2014, Khan *et al.* 2020, Garcia-Rejon *et al.* 2021), las medidas destinadas al control de la epidemia del virus Dengue (DENV) establecidas por el Ministerio de Salud (MS) brasileño utilizan la densidad de la población de *Ae. aegypti* como parámetro para direccionar y evaluar tales medidas, sin considerar, aún, a *Ae. albopictus* como un vector de importancia epidemiológica (Carvalho *et al.* 2014).

Conocida como una especie silvestre en Asia, la adaptación de *Ae. albopictus* a criaderos naturales y artificiales en ambientes antropizados, preferentemente en espacios urbanos y suburbanos densamente poblados, asociado a la capacidad de las hembras para alimentarse de una amplia variedad de vertebrados homeotérmicos y heterotérmicos, aumenta los riesgos de transmisión de patógenos zoonóticos entre animales y la población humana (Kamgang *et al.* 2011).

Por otro lado, el estudio de la diversidad genética en poblaciones naturales de mosquitos del género *Aedes* Meigen, 1818, utilizando marcadores moleculares, como aloenzimas, microsátelites y genes mitocondriales, aportan información de gran importancia sobre la dispersión y la dinámica poblacional de estos vectores, contribuyendo para el monitoreo entomológico de las especies y la implementación de estrategias de control de estos vectores (Costa-Ribeiro *et al.* 2006, Zhang *et al.* 2022, Carrasco-Montalvo *et al.* 2022).

De esta forma, las características especiales de los genes mitocondriales de la subunidad I y II de la citocromo c oxidasa (*COI* y *COII*), como su elevada tasa evolutiva, herencia uniparental transmitida única y exclusivamente por el linaje materno y, en consecuencia, la ausencia de recombinación genética, permiten que estos marcadores sean los más utilizados en investigaciones sobre la evolución molecular y genética de la población *Ae. albopictus* (Lee *et al.* 2020; Carrasco-Montalvo *et al.* 2022). Sin embargo, en los últimos años fue demostrado que la infección por *Wolbachia* Hertig, simbionte intracelular heredado por vía materna, en *Ae. albopictus* y otros artrópodos, puede provocar la disminución de la diversidad de haplotipos mitocondriales en las poblaciones

donde este simbiote circula (Zhang *et al.* 2013, Cariou *et al.* 2017, Bartoňová *et al.* 2021, Lucati *et al.* 2022). De esta forma, el estudio de la diversidad genética utilizando genes mitocondriales puede demandar la complementación con análisis nucleares (Wei *et al.* 2022).

En este contexto, el presente estudio describió la diversidad de la fauna de culicidos asociada a *Ae. albopictus* encontrada en criaderos naturales de cuatro grandes áreas públicas en el ambiente urbano del municipio de Belém, capital do Estado de Pará, la región amazónica brasileña, además de la descripción de dos haplotipos del gen *COI* presentes en el área de mayor grado de antropización.

Material y métodos

Locales y colecta activa de larvas

Las larvas de mosquitos fueron colectadas a través de búsqueda activa durante el período de enero a mayo de 2020, correspondiente a la temporada de lluvias en la región amazónica, en el municipio de Belém (Estado de Pará), Amazonía oriental, en la región norte de Brasil (-1,45464382; -48,5020698). La región tiene un clima ecuatorial, con temperatura y precipitaciones medias anuales de alrededor de 26 °C y 1.138 mm, respectivamente.

Las colectas se realizaron en cuatro áreas con diferentes grados de antropización: área A, ubicada a orillas del río Guamá, presenta un nivel

alto de antropización, caracterizada por áreas compuestas por charcos temporales de agua de lluvia, suelo con mucho sustrato orgánico, rodeado de maleza y gran cantidad de árboles de tamaño mediano, además de edificaciones y alta circulación de personas (superficie total 3.328.655 m²; superficie construida 204.930 m²); áreas B y C, corresponden a Parques Zoobotánicos con ambiente semi preservado y libre circulación de animales, tienen un nivel medio de antropización y visitación abierta seis días a la semana (área total B 52.000 m²; área total C 150.000 m²); y área D, con un nivel bajo de antropización, correspondiente a una Unidad de Conservación Estatal, la cual es visitada por personas en horarios restringidos (área total 13.800.000 m²) (Fig 1).

La inspección previa de las áreas de estudio mostró que los criaderos naturales encontrados en estas áreas incluían bambusales, agujeros de troncos de árboles y bromelias, los cuales fueron utilizados para la recolección de las formas inmaduras de los insectos. Fueron llevadas a cabo colectas mensuales, totalizando tres colectas en cada una de las áreas incluidas en este estudio. Cada colecta fue realizada por un periodo de una hora de búsqueda activa por el mismo número de operadores. Los criaderos fueron inspeccionados y, cuando fueron positivos, todas las larvas y pupas recolectadas utilizando un aspirador plástico. Los especímenes fueron transferidos a frascos con tapa hermética, etiquetados de acuerdo con la fecha y el

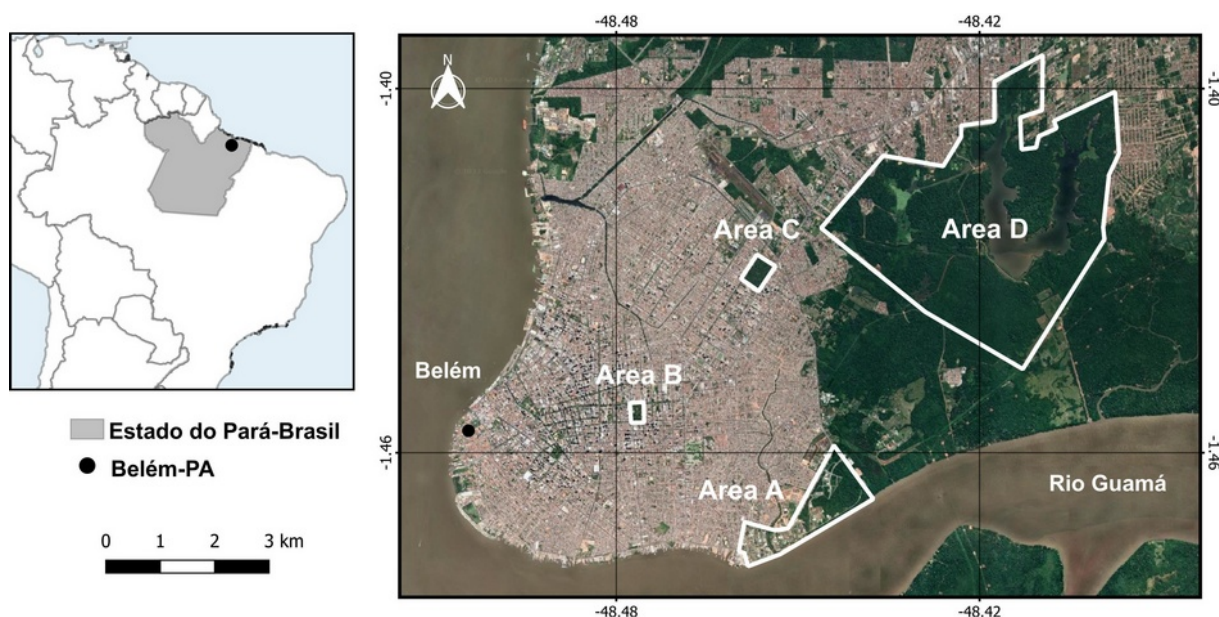


Figura 1. Áreas de colecta de larvas de mosquitos en el municipio de Belém, Estado de Pará, Brasil.

Figure 1. Collection areas of mosquito larvae in the municipality of Belém, State of Pará, Brazil.

lugar de colecta, y transportados al Laboratorio de Biología de Parásitos y Vectores de la Universidad Federal de Pará. Cabe destacar que cada una de las colectas fue realizada en locales diferentes dentro de cada una de las áreas de estudio, con el objetivo de cubrir el mayor número de criaderos dentro de cada área. Las larvas de mosquito se mantuvieron en un insectario en condiciones ambientales controladas (temperatura de 26 °C-28 °C, humedad entre 70-80% y periodos de luz/oscuridad de 12 horas), hasta la formación de los insectos adultos.

Posteriormente, la identificación morfológica de los mosquitos adultos se basó en las claves taxonómicas descritas por Consoli & Lourenço-Oliveira (1994) y Forattini (2002). La riqueza correspondió al número de especies identificadas en cada área al final de las tres colectas. El presente trabajo contó con la aprobación del Sistema de Información y Autorización de Biodiversidad (SISBio) con número de licencia 16062-1.

Extracción de ADN, amplificación y secuenciación del gen *COI*

Se extrajo ADN total de 16 especímenes de mosquitos adultos derivados de larvas recolectadas en el área de estudio A de acuerdo con el protocolo estándar de Sambrook *et al.* (1989), utilizando fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (Invitrogen). La amplificación de la subunidad I de la citocromo c oxidasa mitocondrial (*COI*) se realizó utilizando los oligonucleótidos 1454F y 2160R, descritos por Zhong *et al.* (2013), que amplifican un fragmento de 709 pb. Las amplificaciones se realizaron en un volumen final de 25 µl, que contenía 3 µl de ADN genómico, MgCl₂ 0,5 mM, dNTP 0,2 mM, 10 pmol de cada oligonucleótido y 0,5 U de ADN *Platinum Taq* polimerasa (Invitrogen), utilizando el termociclador 2720 (Applied Biosistema). Los ciclos de PCR incluyeron un paso de desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 min y 35 ciclos de 94 °C durante 30 s, 55 °C durante 30 s y 72 °C durante 1 min. Se incluyó una extensión adicional realizada a 72 °C durante 10 min. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1 %, los fragmentos se purificaron con el sistema de purificación de ADN *Wizard® PCR Preps* (Promega) y se secuenciaron directamente con los oligonucleótidos 1454F y 2160R con el *kit ABI Big Dye Terminator Cycle Sequencing*. Los números de acceso (GenBank) de las secuencias descritas en este trabajo son OQ983540 y

OQ983541.

Análisis de secuencia del gen *COI*

Las secuencias se editaron utilizando el software ApE (Davis & Jorgensen 2022) completando 620 bp. Para comparar las secuencias obtenidas, estas se alinearon y analizaron utilizando el software ClustalX (Larkin *et al.* 2007) y GeneDoc (Nicholas & Nicholas 1997). Se utilizó, además, la herramienta básica de búsqueda de alineación local (BLAST-NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) para verificar la similitud con secuencias de referencia de diferentes partes del mundo, siendo rescatadas 22 secuencias del GenBank. Los detalles de las secuencias incluidas en los análisis se pueden ver en la tabla 1, utilizando una secuencia del gen *COI* de *Ae. aegypti* (JQ926703) como grupo externo. Las reconstrucciones filogenéticas se realizaron utilizando inferencia bayesiana, como implementado en MrBayes v3.2.0 (Huelsenbeck & Ronquist 2001). El modelo evolutivo GTR se utilizó después de un análisis de selección de modelos realizado en MEGA v.11 (Tamura *et al.* 2021). La inferencia bayesiana se ejecutó con dos búsquedas de Markov Chain Monte Carlo de 3 millones de generaciones, y cada una tomó muestras de 1 en 300 árboles. Después de eliminar un desgaste

País	Continente	Clima	Nº acceso
Brasil (Rio de Janeiro)	América del Sur	Tropical	AJ971003
Brasil (Maranhão)	América del Sur	Tropical	AJ971014
Brasil	América del Sur	Tropical	MW279079
Camboya	Asia	Tropical	AJ971006
India	Asia	Tropical	KJ410335
Malasia	Asia	Tropical	MF148287
Tailandia	Asia	Tropical	AJ971015
Vietnam	Asia	Tropical	AJ971004
Rep. Dem. Congo	África	Tropical	MN299017
China	Asia	Sub-tropical	KU738427
China	Asia	Sub-tropical	KU738408
Japón	Asia	Temperado	OK493371
Nepal	Asia	Temperado	OL348167
Rusia	Asia	Temperado	MZ501561
Rusia	Asia	Temperado	MW776430
Alemania	Europa	Temperado	JQ388786
Francia	Europa	Temperado	AJ971008
Grecia	Europa	Temperado	AY748238
Italia	Europa	Temperado	KX383933
EEUU	América del Norte	Temperado	AJ971005
Hawaii	Oceanía	Sub-tropical	AJ971011
Madagascar	África	Sub-tropical	AJ971007

Tabla 1. Secuencias del gen *COI* de *Aedes albopictus* utilizadas para el análisis filogenético, mostrando país de origen, continente y tipo de clima donde fueron descritas.

Table 1. *Aedes albopictus* *COI* gene sequences used for phylogenetic analysis, showing country of origin, continent and type of climate where they were described.

del 25%, los árboles restantes se utilizaron para calcular el árbol de consenso de regla mayoritaria del 50%. El árbol filogenético resultante se visualizó utilizando FigTree v.1.4.0 (Rambaut 2010).

Resultados

Durante el período de este estudio, se recolectaron 1.819 larvas de mosquitos en los criaderos naturales de las cuatro áreas que presentan diferente grado de antropización en el municipio de Belém. Después de identificar los insectos adultos, se observó que el 37,8% (687) de ellos eran machos y el 62,2% (1.132) hembras. La identificación taxonómica mostró que los culícidos colectados pertenecían a 18 especies, distribuidas en 8 géneros. En términos cuantitativos, la especie más abundante fue *Ae. albopictus*, que representó el 63,2% (1.154) de los ejemplares colectados, seguido de *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (12,6%); *Limatus durhamii* Theobald, 1901 (10,9%); *Culex coronator* Dyar & Knab, 1906 (5,5%); *Limatus flavisetosus* Castro, 1935 (3,9%); y *Ae. aegypti*, (1,9%). Las demás especies presentaron baja abundancia (Tabla 2).

Al analizar la abundancia de especies en las cuatro áreas estudiadas, se observó que el número de larvas colectadas fue similar en las áreas A, B y D (A=360; B=361; D=371), mientras que el área C presentó una abundancia de prácticamente el doble (727 individuos). *Aedes albopictus* fue encontrado en las cuatro áreas muestreadas,

siendo la especie predominante en las áreas de alta y media antropización (áreas A, B y C), en comparación con el área de mayor preservación ambiental (área D). Por otro lado, en el área de mayor extensión de bosque preservado, que tiene circulación limitada de personas y menor influencia en el entorno (área D), la especie predominante fue *Cx. quinquefasciatus*. Cabe señalar que el ambiente boscoso (área D) presentó la mayor riqueza de especies (S=11), seguido del ambiente semi conservado B (S=10), el ambiente antropizado A (S=7) y, finalmente, el área semi conservada C (S=4) (Fig. 2).

Por otro lado, el estudio de las secuencias parciales del gen *COI* (620 bp) de 16 mosquitos del área de mayor grado de antropización permitió describir dos haplotipos de *Ae. albopictus*, diferenciados por un SNP (*single nucleotide polymorphism*) ubicado en la posición 357 (C/T) de las secuencias obtenidas en este estudio. Estos haplotipos fueron nombrados BELEM-COI-C y BELEM-COI-T. En términos cuantitativos, el haplotipo BELEM-COI-C fue dominante (13 de 16 secuencias) entre las muestras analizadas. El análisis bayesiano (desviación estándar promedio de frecuencias divididas: 0,006033), basado en el alineamiento de las secuencias obtenidas en este estudio con haplotipos del gen *COI* de *Ae. albopictus* obtenidos de la base de datos GenBank (Tabla 1), dio como resultado un árbol que contiene dos clados distintos con altas probabilidades posteriores, los cuales asociaron el haplotipo

Especies	Área A			Área B			Área C			Área D			TOTAL
	♂	♀	Total	♂	♀	Total	♂	♀	Total	♂	♀	Total	
<i>Aedes albopictus</i> Skuse, 1884	137	208	345	73	86	159	304	342	646	1	3	4	1.154
<i>Aedes aegypti</i> Linnaeus, 1762	2	4	6	1	4	5	10	12	22	0	1	1	34
<i>Aedes (Ochlerotatus) septemstriatus</i> Dyar & Knab, 1907	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	4	4
<i>Aedes (Ochlerotatus) argyrothorax</i> Bonne-Wepster & Bonne, 1920	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2
<i>Culex (Culex) quinquefasciatus</i> Dice, 1823	-	-	-	-	-	-	-	-	-	102	128	230	230
<i>Culex (Culex) coronator</i> Dyar & Knab, 1906	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48	52	100	100
<i>Culex (Melanoconion) pedroi</i> Sirivanakarn & Belkin, 1980	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1
<i>Culex</i> sp1	-	-	-	2	1	3	-	-	-	-	-	-	3
<i>Culex</i> sp2	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1	-	1	2
<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	-	3	3	-	117	117	-	53	53	-	26	26	199
<i>Limatus flavisetosus</i> Oliveira-Castro, 1935	-	1	1	-	65	65	1	5	6	-	-	-	72
<i>Wyeomyia aporonoma</i> Dyar & Knab, 1906	-	1	1	-	3	3	-	-	-	-	-	-	4
<i>Wyeomyia</i> spp.	-	2	2	-	6	6	-	-	-	-	-	-	8
<i>Deinocerites aporonoma</i> Theobald, 1901	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1
<i>Deinocerites</i> sp.	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	2
<i>Sabethes</i> spp.	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Uranotaenia calosomata</i> Dyar & Knab, 1907	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Total	139	221	360	77	284	361	315	412	727	156	215	371	1819
N° de géneros	4			5			2			6			
N° de especies	7			10			4			11			

Tabla 2. Diversidad de mosquitos en las diferentes áreas de estudio.

Table 2. Diversity of mosquitoes in the different study areas.

BELEM-COI-C con mosquitos de regiones de clima tropical y al haplotipo BELEM-COI-T con mosquitos de regiones de clima templado (Fig. 3).

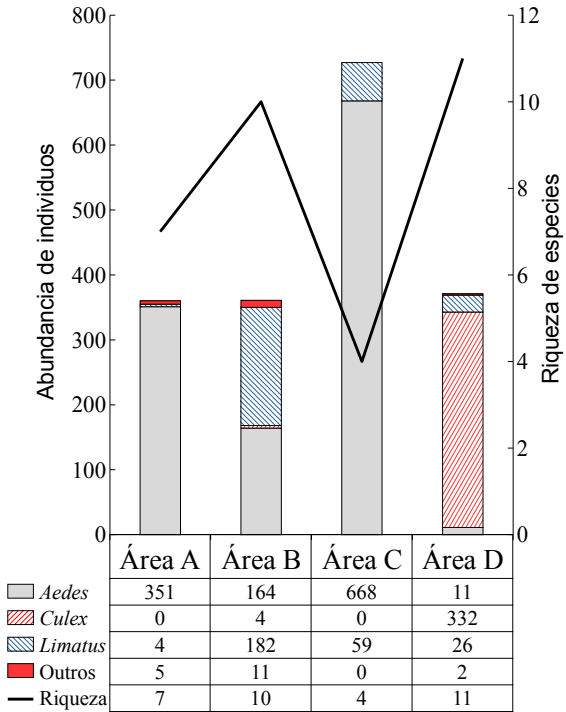


Figura 2. Valores de abundancia y riqueza de especies de larvas de mosquitos en las cuatro zonas de estudio, mostrando los valores de abundancia de los géneros más significativos.

Figure 2. Values of abundance and species richness of mosquito larvae in the four study areas, showing the abundance values of the most significant genera.

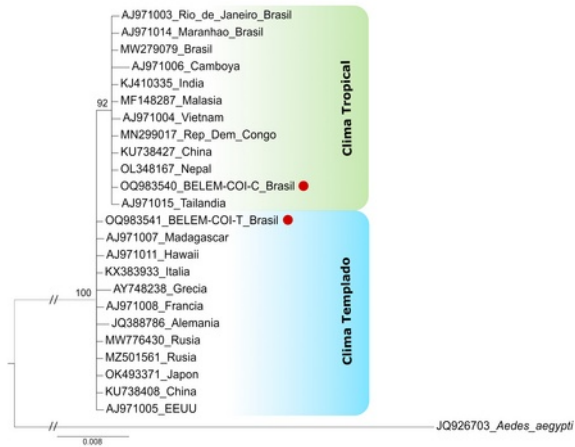


Figura 3. Filogenia bayesiana basada en las secuencias parciales del gen COI de *Aedes albopictus* (620 pb). Como grupo externo se utilizó *Aedes aegypti*. Los valores de soporte en los nodos (en porcentaje) indican probabilidades posteriores. Las secuencias obtenidas en este estudio se indican como OQ983540 y OQ983541.

Figure 3. Bayesian phylogeny based on the partial sequences of the *Aedes albopictus* COI gene (620 bp). *Aedes aegypti* was used as outgroup. Support values at the nodes (in percentage) indicate posterior probabilities. The sequences obtained in this study are indicated as OQ983540 and OQ983541.

Discusión

El proceso de urbanización lleva, inevitablemente, a la fragmentación de los hábitats originales, teniendo un impacto negativo en la diversidad de mosquitos. Esta modificación permite la creación de nuevos nichos ecológicos que pueden ser ocupados por especies invasoras potencialmente dañinas para los humanos (Montagner *et al.* 2018). En este contexto, el estudio de la fauna de mosquitos en determinadas comunidades contribuye al conocimiento del avance de estas especies invasoras en un ecosistema.

Por otro lado, el estudio de la diversidad de especies de anofelinos, sabetinos, aedinos e mansonias puede utilizarse como biomarcador de cambios ambientales en determinados ecosistemas (Dorvillé 1996; Souto & Pimentel 2006). De esta forma, la descripción de la fauna de mosquitos en estos ambientes se considera fundamental, no solo para estudios ecológicos, sino también en la creación de acciones preventivas en salud pública, ya que algunas especies son vectores potenciales de arbovirosis humanas.

Según Harbach (2023), la familia Culicidae comprende un total de 3.618 especies descritas hasta el momento y, debido al comportamiento antropofílico de algunas de ellas, pueden estar involucradas en la transmisión de patógenos a humanos cuando se adaptan a ambientes antropizados. De las especies encontradas en este estudio, además de *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti*, seis especies de mosquitos están asociadas a la transmisión de arbovirus o sirven como reservorios de estos patógenos: *Cx. quinquefasciatus* (McGregor *et al.* 2021), *Cx. coronator* (Hammon & Reevers 1943), *Cx. pedroii* (Auguste *et al.* 2010), *Li. durhamii* (Segura & Castro 2007), *Li. flavisetosus* (Lima *et al.* 2016) y *Wý. aporonoma* (Segura & Castro 2007), destacando que *Ae. albopictus* fue la especie más abundante, caracterizándose por su competencia vectorial para arbovirus pertenecientes a las familias Flaviviridae, Togaviridae, Bunyaviridae, Reoviridae y Nodaviridae (Paupy *et al.* 2009). En Brasil, el primer registro de transmisión vertical del DENV en *Ae. albopictus* se llevó a cabo en la ciudad de Fortaleza, Estado de Ceará, en la región noreste de Brasil, donde las larvas colectadas en el área urbana se encontraron infectadas con DENV-2 y DENV-3 (Martins *et al.* 2012). Asimismo, *Ae. albopictus* ha sido descrito

en la literatura como responsable de la transmisión de DENV y virus Zika en una zona rural del Estado de Espírito Santo, en el sureste de Brasil (Rezende *et al.* 2020).

Aunque el presente estudio no fue diseñado con el objetivo de evaluar el impacto de *Ae. albopictus* sobre la población de mosquitos en las cuatro áreas estudiadas, se pueden hacer algunas inferencias desde el punto de vista entomológico. Nuestros resultados muestran la plasticidad biológica de *Ae. albopictus* en adaptarse a los lugares antropizados, habiéndose observado mayor abundancia de esta especie en zonas de alto y medio impacto antrópico. Asimismo, el elevado número de ejemplares de *Ae. albopictus* en el área C, un área semi-preservada, coincidió con la disminución de la riqueza de especies de mosquitos en esta área. En este sentido, un estudio realizado en 61 parques públicos del Estado de São Paulo, en la región sudeste de Brasil, demostró que en los parques donde *Ae. albopictus* era encontrado, el 65% de los mosquitos identificados correspondieron a esta especie, siendo siete veces más abundante que *Ae. aegypti* (Ceretti-Júnior *et al.* 2014). Por otro lado, la baja frecuencia de *Ae. albopictus* en el área de preservación (área D) puede indicar una preferencia por el uso de criaderos naturales en áreas urbanizadas. Este resultado puede compararse con un estudio realizado en el Jardín Botánico de la ciudad de Bauru, Estado de São Paulo, donde larvas de *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti* fueron poco frecuentes en criaderos naturales (bromelias), destacando que, así como los resultados obtenidos en el presente estudio, las larvas de mosquitos del género *Culex* Linnaeus, 1758 fueron las más abundantes (Oliveira & Almeida-Neto 2017).

Los criaderos naturales donde las larvas de *Ae. albopictus* fueron colectadas incluyeron entrenudos de bambusales, bromelias y tronco de árboles. En este contexto, el bambú, planta de la familia de las gramíneas, posee cañas que favorecen la acumulación de agua, convirtiéndose, así, en un microambiente ideal para el desarrollo de formas inmaduras de culícidos. En ese sentido, varios trabajos realizados en territorio brasileño muestran la preferencia de *Ae. albopictus* en el uso de estos criaderos naturales (Silva *et al.* 2004; Ceretti-Junior *et al.* 2015; Medeiros-Sousa *et al.* 2015) y menos frecuentemente el uso de criaderos artificiales, relacionado con la infestación de edificios en áreas urbanas (Passos *et al.* 2003; Sousa *et al.*

2021).

Por otro lado, los genes mitocondriales han sido ampliamente utilizados como marcadores moleculares para delinear la historia evolutiva de una amplia variedad de seres vivos, incluidos mamíferos, peces e insectos, así como para caracterizar la diversidad genética de las poblaciones (Ermakov *et al.* 2015; Fang *et al.* 2018; Zou *et al.* 2020). En este sentido, los genes mitocondriales *COI*, NADH deshidrogenasa subunidad 4 y 5 (*ND4* y *ND5*) son los más utilizados para estudiar la diversidad genética de *Ae. albopictus* (Duong *et al.* 2021; Shin *et al.* 2023).

En el presente estudio conseguimos describir dos haplotipos utilizando la secuencia parcial del gen *COI* (620 bp) de *Ae. albopictus* en 16 mosquitos del área de mayor grado de antropización (área A). Nuestros resultados indican que estos haplotipos pueden ser diferenciados en función de la presencia de un SNP en las secuencias analizadas (BELEM-COI-C y BELEM-COI-T). En este sentido, Shin & Jung (2021), utilizando dos marcadores mitocondriales (*COI* y *ND5*), observaron que la población de *Ae. albopictus* en la península de Corea tuvo un número bajo de haplotipos en comparación con el número total de especímenes analizados. Del mismo modo, Kagang *et al.* (2018), utilizando la secuencia del gen *COI*, y Abuseir *et al.* (2020), utilizando los marcadores *COI* y *ND5*, demostraron, de forma independiente, un nivel bajo de polimorfismo en los mosquitos de la República del Congo y Palestina, respectivamente.

A pesar de la amplia utilización de genes mitocondriales en la caracterización genética de *Ae. albopictus* (Lee *et al.* 2020, Duong *et al.* 2021, Carrasco-Montalvo *et al.* 2022), estos genes muestran una limitación debido al bajo nivel de polimorfismos encontrado en la población de mosquitos (Ibáñez-Justicia *et al.* 2022). Esta característica puede ser asociada a la transmisión de *Wolbachia* entre los insectos de una región determinada, provocando una disminución de la diversidad en la estructura mitocondrial, fenómeno descrito en una amplia variedad de artrópodos (Zhang *et al.* 2013, Ali *et al.* 2018, Bartoňová *et al.* 2021).

Varios estudios ya han descrito la presencia de *Wolbachia* en *Ae. albopictus* en diversas regiones del mundo (Armbruster *et al.* 2003, Puerta-Guardo *et al.* 2020, Hu *et al.* 2020). En este sentido, un estudio realizado sobre *Ae. albopictus* en

la Península Ibérica demostró que los genes mitocondriales tenían una baja diversidad genética, cuando comparada a la diversidad de genes nucleares, lo que se explica por la presencia de *Wolbachia* en la población de mosquitos estudiada (Lucati *et al.* 2022).

A pesar del bajo número de muestras estudiadas, el análisis filogenético de las secuencias del gen *COI* obtenidas en este estudio, junto con muestras de *Ae. albopictus* de Brasil y otras regiones del mundo, pudimos observar que el haplotipo BELEM-COI-C, más frecuente entre los especímenes analizados, se encuentra comúnmente en mosquitos de países con clima tropical, mientras que el haplotipo BELEM-COI-T corresponde a la de los insectos que se encuentran en países subtropicales y de clima templado. Esta misma distribución se pudo observar en la secuencia de mosquitos provenientes de China, un país de dimensiones continentales con diferentes tipos de clima (Fig. 3). Resultados similares fueron descritos por Kangang *et al.* (2011), quienes demostraron que las poblaciones de *Ae. albopictus* encontrado en Camerún podría estar asociado con mosquitos de clima tropical, al analizar los haplotipos locales del gen *COI*. De esta forma, la descripción de dos haplotipos del gen *COI* realizada en este estudio puede servir como un indicador inicial en la tarea de caracterizar genéticamente la población de *Ae. albopictus* en la región Amazónica brasileña.

El carácter invasivo de *Ae. albopictus*, permitió que esta especie se convirtiera rápidamente en un problema de salud pública en varias regiones del mundo, debido a su plasticidad biológica y capacidad de transmisión de varios arbovirus. En ese sentido, la región amazónica brasileña demostró ser un lugar propicio para su rápida adaptación, siendo encontrado, principalmente, en áreas semi preservadas y con alto grado de antropización en Belém, capital del Estado de Pará, el segundo Estado con mayor extensión territorial del Federación Brasileña. Deben realizarse nuevos estudios para demostrar el papel de *Ae. albopictus* en la transmisión de arbovirus en la región amazónica.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Lda. Johanna Andrea Piñones Tapia, de la empresa Acredita Norte Chile, por la corrección del manuscrito en español.

Referencias

- Abuseir S, Naccache F, Jung K, Adwan G, Strube C & Becker SC. 2020. Genetic characterization of Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* in Palestine. *Bulletin of Insectology* 73: 225-232.
- Ali H, Muhammad A, Bala NS, Wang G, Chen Z, Peng Z & Hou Y. 2018. Genomic evaluations of *Wolbachia* and mtDNA in the population of coconut hispine beetle, *Brontispa longissima* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 127: 1000-1009. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.07.003>
- Armbruster P, Damsky WE Jr, Giordano R, Birungi J, Munstermann LE & Conn JE. 2003. Infection of New- and Old-World *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) by the intracellular parasite *Wolbachia*: implications for host mitochondrial DNA evolution. *Journal of Medical Entomology* 40(3): 356-360. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.3.356>
- Auguste AJ, Adams AP, Arrigo NC, Martinez R, Travassos da Rosa AP, Adesiyun AA, ... Weaver SC. 2010. Isolation and characterization of sylvatic mosquito-borne viruses in Trinidad: enzootic transmission and a new potential vector of Mucambo virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 83 (6): 1262-1265. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0280>
- Bartoňová AS, Konvička M, Marešová J, Wiemers M, Ignatev N, Wahlberg N, ... Fric Z. 2021. *Wolbachia* affects mitochondrial population structure in two systems of closely related Palaearctic blue butterflies. *Scientific Reports* 11(1): 3019 [14]. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82433-8>
- Cariou M, Duret L & Charlat S. 2017. The global impact of *Wolbachia* on mitochondrial diversity and evolution. *Journal of Evolutionary Biology* 30(12): 2204-2210. <https://doi.org/10.1111/jeb.13186>
- Carrasco-Montalvo A, Ponce P, Villota SD, Quentin E, Muñoz-Tobar S, Coloma J & Cevallos V. 2022. Establishment, genetic diversity, and habitat suitability of *Aedes albopictus* populations from Ecuador. *Insects* 13 (3): 305 [13]. <https://doi.org/10.3390/insects13030305>
- Carvalho RG, Lourenço-de-Oliveira R & Braga IA. 2014. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 109(6): 787-796. <https://doi.org/10.1590/0074-0276140304>
- Ceretti-Júnior W, Medeiros-Sousa AR, Multini LC, Urbinatti PR, Vendrami DP, Natal D, ... Marrelli MT. 2014. Immature mosquitoes in bamboo internodes in municipal parks, city of São Paulo, Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association* 30 (4): 268-274. <https://doi.org/10.2987/14-6403r.1>
- Ceretti-Junior W, de Oliveira-Christe R, Rizzo M, Strobel RC, de Matos-Junior MO, de Mello MH, ... Marrelli MT. 2015. Species composition and ecological aspects of immature mosquitoes (Diptera: Culicidae) in bromeliads in urban parks in the city of São Paulo, Brazil. *Journal of Arthropod-Borne Diseases* 10(1):

- 102-12.
- Chala B & Hamde F. 2021. Emerging and re-emerging vector-borne infectious diseases and the challenges for control: a review. *Frontiers in Public Health* 9: 715759 [10]. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.715759>
- Consoli RAGB & Lourenço-de-Oliveira R. 1994. Principais mosquitos de importância sanitária do Brasil. Rio de Janeiro, Brasil: Editora FIOCRUZ.
- Costa-Ribeiro MCV, Lourenço-de-Oliveira R & Failloux AB. 2006. Higher genetic variation estimated by microsatellites compared to isoenzyme markers in *Aedes aegypti* from Rio de Janeiro. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 101(8): 917-921. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762006000800015>
- Davis MW & Jorgensen EM. 2022. ApE, A Plasmid Editor: A Freely Available DNA Manipulation and Visualization Program. *Frontiers in Bioinformatics* 2:818619 [15]. <https://doi.org/10.3389/fbinf.2022.818619>
- Dorvillé LFM. 1996. Mosquitoes as bioindicators of forest degradation in southeastern Brazil, a statistical evaluation of published data in the literature. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 31: 68-78. <https://doi.org/10.1076/snfe.31.2.68.13331>
- Duong CV, Kang JH, Nguyen VV & Bae YJ. 2021. Genetic Diversity and Population Structure of the Asian Tiger Mosquito (*Aedes albopictus*) in Vietnam: Evidence for Genetic Differentiation by Climate Region. *Genes (Basel)* 12(10):1579 [15]. <https://doi.org/10.3390/genes12101579>
- Ermakov OA, Simonov E, Surin VL, Titov SV, Brandler OV, Ivanova NV & Borisenko AV. 2015. Implications of hybridization, NUMTs, and overlooked diversity for DNA Barcoding of Eurasian ground squirrels. *PLoS One* 10(3): e0120631 [19]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117201>
- Fang Y, Zhang J, Wu R, Xue B, Qian Q & Gao B. 2018. Genetic Polymorphism Study on *Aedes albopictus* of Different Geographical Regions Based on DNA Barcoding. *BioMed Research International* 2018: 1501430 [10]. <https://doi.org/10.1155/2018/1501430>
- Fikrig K & Harrington LC. 2021. Understanding and interpreting mosquito blood feeding studies: the case of *Aedes albopictus*. *Trends in Parasitology* 37(11): 959-975. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.07.013>
- Forattini OP. 1986. Identificação de *Aedes (Stegomyia) Albopictus* (Skuse) no Brasil. *Revista De Saúde Pública* 20(3): 244-245. <https://doi.org/10.1590/S0034-89101986000300009>
- Forattini OP. 2002. *Culicidologia médica*. Volume 2: Identificação, biologia e epidemiologia. São Paulo, Brasil: Edusp.
- Garcia-Rejon JE, Navarro JC, Cigarroa-Toledo N & Baak-Baak CM. 2021. An Updated Review of the Invasive *Aedes albopictus* in the Americas; Geographical Distribution, Host Feeding Patterns, Arbovirus Infection, and the Potential for Vertical Transmission of Dengue Virus. *Insects* 12(11): 967 [13]. <https://doi.org/10.3390/insects12110967>
- Hammon WM & Reeves WC. 1943. Laboratory transmission of St. Louis Encephalitis virus by three genera of mosquitoes. *Journal of Experimental Medicine* 78(4): 241-253. <https://doi.org/10.1084/jem.78.4.241>
- Harbach, Ralph E. 2023. Valid Species List. Mosquito Taxonomic Inventory, no. April: 1-61. Disponible en: <https://mosquito-taxonomic-inventory.myspecies.info/valid-species-list> (accedido 09-V-2023).
- Hu Y, Xi Z, Liu X, Wang J, Guo Y, Ren D, ... Liu Q. 2020. Identification and molecular characterization of *Wolbachia* strains in natural populations of *Aedes albopictus* in China. *Parasites & Vectors* 13: 28 [14]. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3899-4>
- Huelsenbeck JP & Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian Inference of Phylogenetic Trees. *Bioinformatics* 17: 754-755. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>
- Ibáñez-Justicia A, van de Vossenbergh B, Warbroek T, Teekema S, Jacobs, F, Zhao T, ... Stroo A. 2022. Tracking Asian tiger mosquito introductions in the Netherlands using Nextstrain. *Journal of the European Mosquito Control Association* 40(1): 11-21. <https://doi.org/10.52004/JEMCA2021.0006>
- Kamgang B, Brengues C, Fontenille D, Njiokou F, Simard F & Paupy C. 2011. Genetic structure of the tiger mosquito, *Aedes albopictus*, in Cameroon (Central Africa). *PLoS One* 6(5):e20257 [10]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020257>
- Kamgang B, Wilson-Bahun TA, Irving H, Kusimo MO, Lenga A & Wondji CS. 2018. Geographical distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) and genetic diversity of invading population of *Ae. albopictus* in the Republic of the Congo. *Wellcome Open Research* 3: 79 [18]. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14659.3>
- Khan SU, Ogden NH, Fazil AA, Gachon PH, Dueymes GU, Greer AL & Ng V. 2020. Current and Projected Distributions of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* in Canada and the U.S. *Environmental Health Perspectives* 128(5): 57007 [13]. <https://doi.org/10.1289/EHP5899>
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, ... Higgins DG. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>
- Lee E, Yang SC, Kim TK, Noh BE, Lee HS, Kim H ... Lee WG. 2020. Geographical Genetic Variation and Sources of Korean *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Populations. *Journal of Medical Entomology* 57(4): 1057-1068. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz254>
- Lima JA, Sousa AW, Silva SP, Barros LJJ, Medeiros DBA, Dias-Junior AG, ... Chiang JO. 2016. Caracterização antigênica e molecular de vírus isolados de mosquitos capturados no Estado do Pará, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 7: 199-208. <https://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232016000500022>
- Lucati F, Delacour S, Palmer JRB, Caner J, Oltra A, Paredes-Esquivel C, ... Ventura M. 2022. Multiple invasions, *Wolbachia* and human-aided transport drive the genetic variability of *Aedes albopictus* in the Iberian Peninsula. *Scientific Reports* 12(1): 20682 [15]. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24963-3>
- Lwande OW, Obanda V, Lindström A, Ahlm C, Evander

- M, Näslund J & Bucht G. 2020. Globe-Trotting *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Risk Factors for Arbovirus Pandemics. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 20(2):71-81. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2486>
- Martins VE, Alencar CH, Kamimura MT, Carvalho-Araújo FM, De Simone SG, Dutra RF & Guedes MI. 2012. Occurrence of natural vertical transmission of dengue-2 and dengue-3 viruses in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Fortaleza, Ceará, Brazil. *PLoS One* 7(7): e41386 [9]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041386>
- McGregor BL, Connelly CR & Kenney JL. 2021. Infection, Dissemination, and Transmission Potential of North American *Culex quinquefasciatus*, *Culex tarsalis*, and *Culicoides sonorensis* for Oropouche Virus. *Viruses* 13(2): 226 [11]. <https://doi.org/10.3390/v13020226>
- Medeiros-Sousa AR, Ceretti-Júnior W, de Carvalho GC, Nardi MS, Araujo AB, Vendrami DP & Marrelli MT. 2015. Diversity and abundance of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in an urban park: larval habitats and temporal variation. *Acta Tropica* 150: 200-209. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.08.002>
- Montagner FRG & Silva OS, Jahnke SM. 2018. Mosquito species occurrence in association with landscape composition in green urban areas. *Brazilian Journal of Biology* 78(2):233-239. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.04416>
- Nicholas KB & Nicholas HB. 1997. GeneDoc: a Tool for Editing and Annotating Multiple Sequence Alignments. Pittsburgh: Pittsburgh Supercomputing Center's National Resource for Biomedical Supercomputing.
- Oliveira VC & Almeida Neto LC. 2017. Ocorrência de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em bromélias cultivadas no Jardim Botânico Municipal de Bauru, São Paulo, Brasil. *Cadernos De Saúde Pública* 33(1): e00071016 [7]. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00071016>
- Passos RA, Marques GRAM, Voltolini JC & Condino MLF. 2003. Dominância de *Aedes aegypti* sobre *Aedes albopictus* no litoral sudeste do Brasil. *Revista De Saúde Pública* 37(6): 729-734. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102003000600007>
- Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbel V & Fontenille D. 2009. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes and Infection* 11(14-15): 1177-1185. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.05.005>
- Puerta-Guardo H, Contreras-Perera Y, Perez-Carrillo S, Che-Mendoza A, Ayora-Talavera G, Vazquez-Prokopec G, ... Manrique-Saide P. 2020. Wolbachia in Native Populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) From Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Insect Science* 20(5): 16 [7]. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa096>
- Rambaut A. 2010. FigTree: Tree Figure Drawing Tool Version 1.4.0; Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh: Edinburgh, UK. Disponible en <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (accedido el 20-II-2024).
- Rezende HR, Romano CM, Claro IM, Caleiro GS, Sabino EC, Felix AC, ... Vicente CR. 2020. First report of *Aedes albopictus* infected by Dengue and Zika virus in a rural outbreak in Brazil. *PLoS One* 15(3): e0229847 [11]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229847>
- Sambrook J, Fritsch EF & Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd ed. Plainview, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Segura MNO, Monteiro HAO, Lopes ES, Silva OV, Castro FC & Vasconcelos PFC. 2003. Encontro de *Aedes albopictus* no Estado do Pará, Brasil. *Revista De Saúde Pública* 37(3): 388-389. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102003000300020>
- Segura MNO & Castro FC. 2007. *Culicídeos na Amazônia Brasileira*. Belém: Instituto Evandro Chagas, FIOCRUZ.
- Silva AM, Nunes V & Lopes J. 2004. *Culicídeos associados a entrenós de bambu e bromélias, com ênfase em Aedes (Stegomyia) albopictus (Diptera, Culicidae) na Mata Atlântica, Paraná, Brasil*. *Iheringia. Série Zoologia* 94(1): 63-66. <https://doi.org/10.1590/S0073-47212004000100011>
- Shin J & Jung J. 2021. Comparative population genetics of the invasive mosquito *Aedes albopictus* and the native mosquito *Aedes flavopictus* in the Korean peninsula. *Parasites & Vectors* 14(1): 377 [10]. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04873-5>
- Shin J, Rahman MM, Kim J, Marcombe S & Jung J. 2023. Genetic Diversity of Dengue Vector *Aedes albopictus* Collected from South Korea, Japan, and Laos. *Insects* 14: 297 [17]. <https://doi.org/10.3390/insects14030297>
- Sousa SS, Silva BP, Tadei WP, Silva JS, Bezerra JMT & Pinheiro VCS. 2021. Reproductive profile of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from an urban area endemic for arboviruses in the Northeast region of Brazil. *Research, Society and Development* 10(9): e6310917631 [12]. <http://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.17631>
- Souto RNP & Pimentel CHC. 2006. *Culicídeos (Diptera: Culicidae) da Região dos Lagos nos Municípios de Amapá, Pracuúba e Tartarugalzinho*. En: *Inventário biológico das áreas do Sucuriju e região dos lagos, no Amapá (Costa Neto SV, ed)*. Macapá-AP: IEPA, 131-142
- Tamura K, Stecher G, & Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38: 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- Wei Y, He S, Wang J, Fan P, He Y, Hu K, ... Zheng X. 2022. Genome-wide SNPs reveal novel patterns of spatial genetic structure in *Aedes albopictus* (Diptera Culicidae) population in China. *Frontiers in Public Health* 10: 1028026 [13]. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1028026>
- Zhang YK, Ding XL, Zhang KJ & Hong XY. 2013. Wolbachia play an important role in affecting mtDNA variation of *Tetranychus truncatus* (Trombidiformes: Tetranychidae). *Environmental Entomology* 42(6): 1240-1245. <https://doi.org/10.1603/EN13085>
- Zhang HD, Gao J, Li CX, Ma Z, Liu Y, Wang G, ... Zhao TY. 2022. Genetic diversity and population genetic structure of *Aedes albopictus* in the Yangtze River

- Basin, China. *Genes* (Basel) 13(11): 1950 [13]. <https://doi.org/10.3390/genes13111950>
- Zhong D, Lo E, Hu R, Metzger ME, Cummings R, Bonizzoni M, ... Yan G. 2013. Genetic analysis of invasive *Aedes albopictus* populations in Los Angeles County, California and its potential public health impact. *PLoS One* 8(7): e68586 [9]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068586>
- Zou R, Liang C, Dai M, Wang X, Zhang X & Song Z. 2020. DNA barcoding and phylogenetic analysis of bagrid catfish in China based on mitochondrial COI gene. *Mitochondrial DNA A DNA Mapping, Sequencing, and Analysis* 31(2):73-80. <https://doi.org/10.1080/24701394.2020.1735379>