

Análise filogenética de carraças e agentes patogénicos dos arquipélagos dos Açores e da Madeira

CARRILHO, Ana ⁽ⁱ⁾; MACANO, Anderson ⁽ⁱ⁾; DIOGO, Daniela ⁽ⁱ⁾; BARRETO, Diana ⁽ⁱ⁾; RIBEIRO, Mónica ⁽ⁱ⁾ & PINA-MARTINS, Francisco ⁽ⁱⁱ⁾⁽ⁱⁱⁱ⁾



(i) 12ºA; 2024/2025; Escola Básica e Secundária Alfredo da Silva, Largo Bento Jesus Caraça 7, 2830-322 Barreiro, Portugal

(ii) Escola Superior de Tecnologia do Barreiro, Rua Américo da Silva Marinho, 2839-001, Lavradio, Portugal

(iii) Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes (CE3C) & CHANGE – Global Change and Sustainability Institute, FCUL, Campo Grande, 1749-016 Lisboa Portugal



Introdução

As carraças são aracnídeos hematófagos e têm um papel fundamental como vetores de diversas doenças, sendo capazes de parasitar vertebrados terrestres e de transmitir uma série de agentes patogénicos, como bactérias, vírus e protozoários (1). Para além da transmissão de doenças, as carraças também podem ter um impacto na agroindústria e, consequentemente, na economia (2), o que as tornam alvos importantes de estudo.

Objetivos do estudo: Construir e analisar árvores filogenéticas de carraças e de agentes patogénicos presentes nos arquipélagos dos Açores e da Madeira, e interpretar as suas respetivas histórias evolutivas, estabelecendo uma relação entre os diferentes agentes patogénicos e os vetores a que estão associados. As quatro espécies de carraças em estudo pertencem à família *Ixodidae* e fazem parte dos géneros *Rhipicephalus* (*R. sanguineus* – Fig. 1) e *Ixodes* (*I. hexagonus*, *I. ventalloi* e *I. ricinus*). Os agentes patogénicos em estudo incluem protozoários dos géneros *Hepatozoon* (*H. canis*, *H. felis*, *H. silvestris*, *H. americanum*) e *Babesia*, e bactérias do género *Rickettsia* (*R. monacensis*, *R. massiliae*, *R. mendelii*).



Fig.1 – *Rhipicephalus sanguineus*

Metodologia

Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3		Etapa 4		Etapa 5	
Sequências de nucleotídeos de vetores e agentes patogénicos foram obtidas por PCR e identificadas por comparação no banco de dados NCBI. (3)		As sequências foram exportadas do NCBI (3) em formato FASTA.		Foi usado o programa MUSCLE (4) para alinhamento múltiplo de sequências.		Escolheu-se o modelo Maximum Likelihood (5) para inferir as árvores filogenéticas.		Utilizou-se o programa MEGA (6) para construir as árvores filogenéticas e comparar os resultados.	

Resultados e Discussão

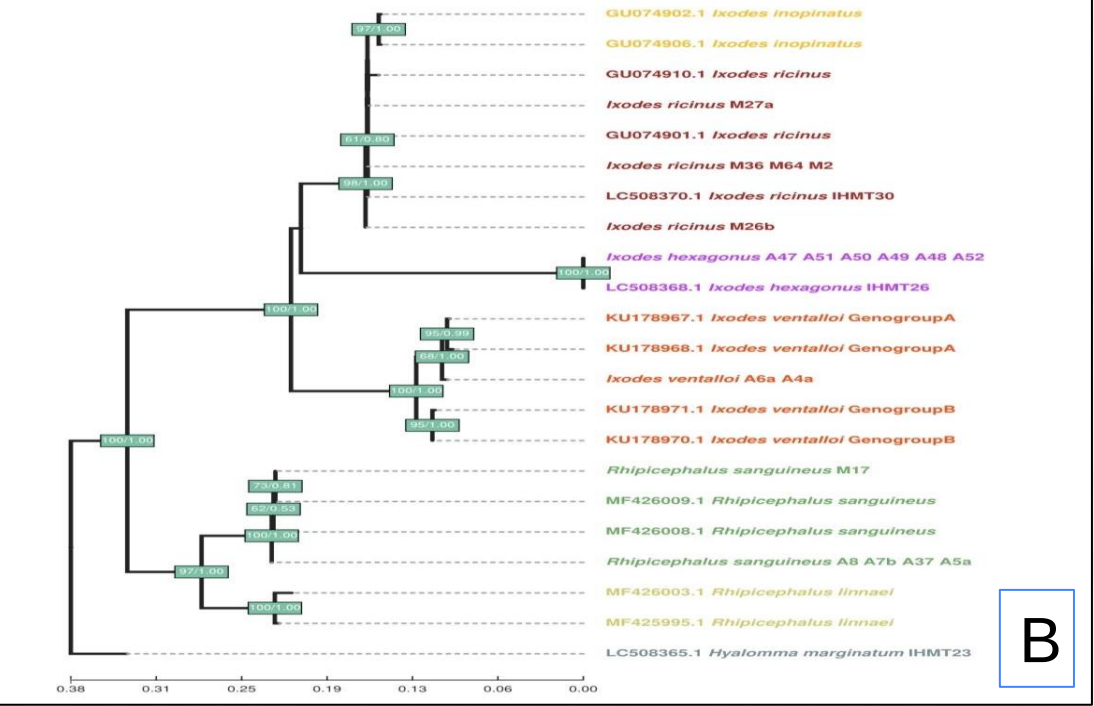
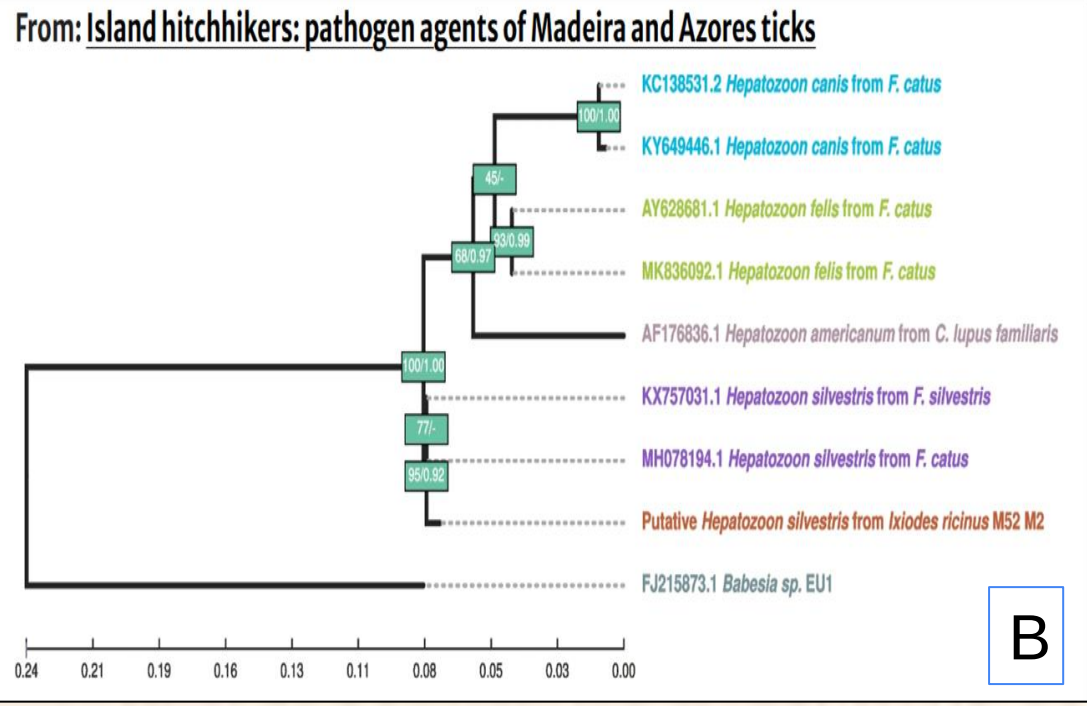
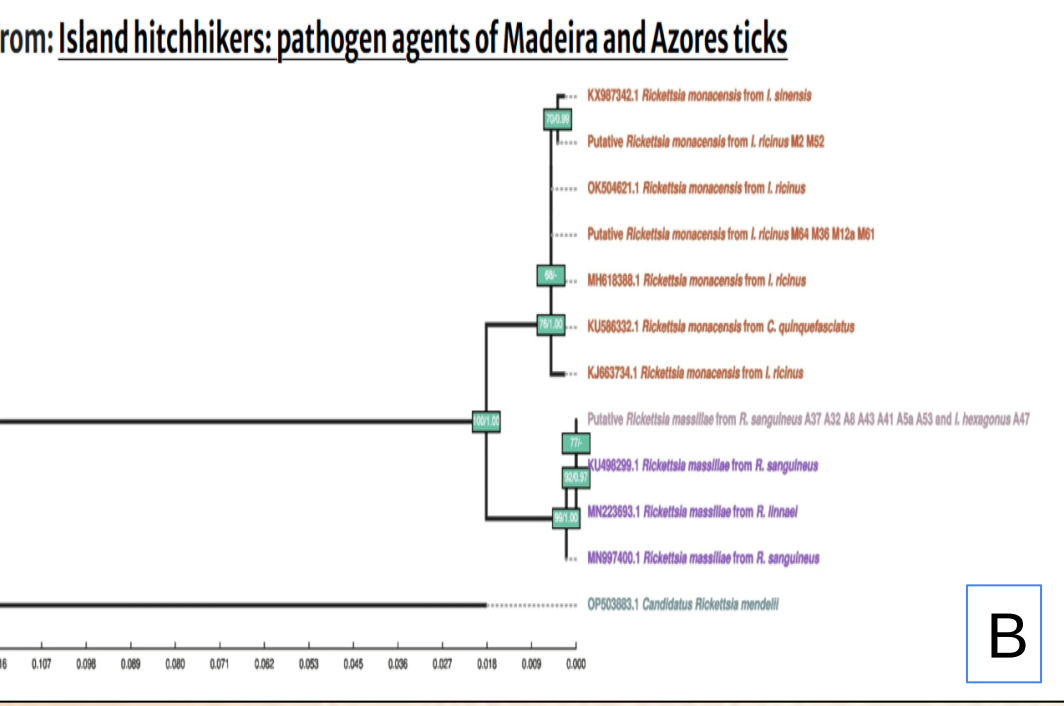
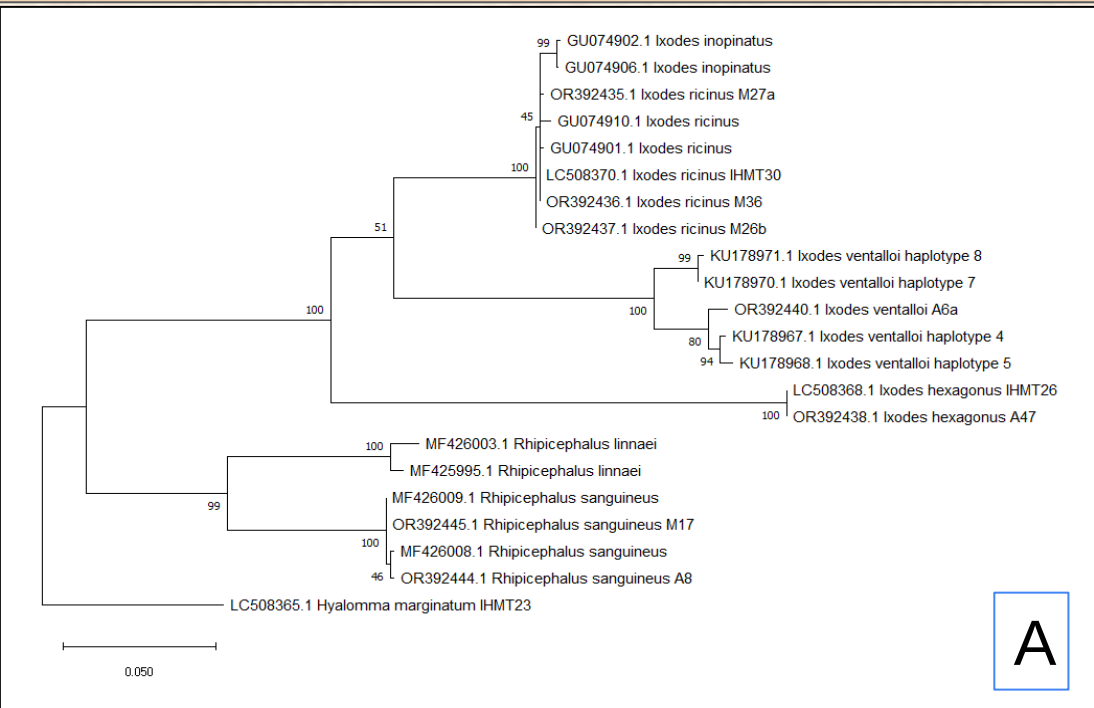
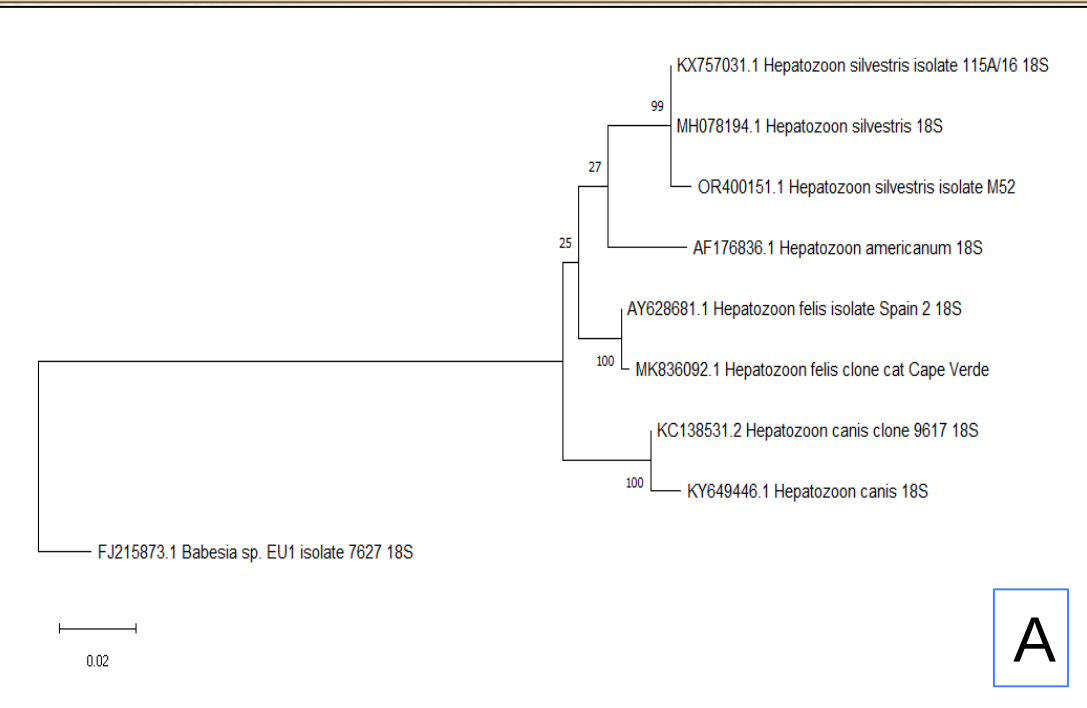
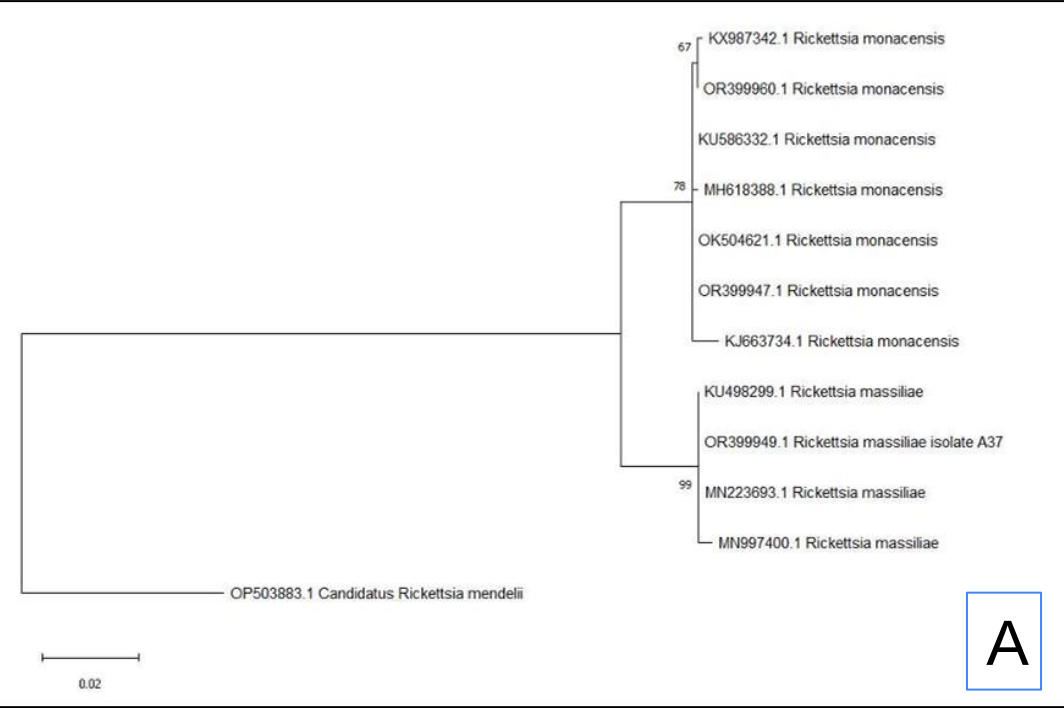


Fig.2 – Árvore filogenética, de Maximum Likelihood, dos agentes patogénicos do género *Rickettsia*. **A** – obtida neste trabalho; **B** – in Rosa et al (2024) (7).

Fig.3 – Árvore filogenética, de Maximum Likelihood, dos agentes patogénicos do género *Hepatozoon*. **A** – obtida neste trabalho; **B** – in Rosa et al (2024) (7).

Fig.4 – Árvore filogenética, de Maximum Likelihood, dos vetores. **A** – obtida neste trabalho; **B** – in Rosa et al (2024) (7).

Na árvore filogenética da Figura 2A, observam-se dois clados principais: *Rickettsia monacensis* e *Rickettsia massiliae*, cada um com uma ligação próxima ao seu vetor específico *Ixodes ricinus* (8) e *Rhipicephalus sanguineus* (9), respetivamente. Isso indica uma separação evolutiva clara entre as espécies e uma relação estreita com os respetivos vetores.

Na Figura 3A, *Babesia* surge na raiz da árvore, sendo evolutivamente a mais distante. As espécies de *Hepatozoon* formam um grupo separado, com *H. canis* e *H. felis* fortemente suportadas como grupo distinto. A relação entre *H. silvestris* e *H. americanum* é menos clara devido ao baixo valor de suporte.

Na Figura 4A, *Ixodes* e *Rhipicephalus* formam clados distintos, com subgrupos bem definidos dentro de cada género. A associação entre *Rickettsia monacensis* e *Ixodes ricinus* (8), e entre *Rickettsia massiliae* e *Rhipicephalus sanguineus* (9), reforça a coevolução entre vetores e agentes patogénicos.

Estudos semelhantes (Figs. 2B, 3B, e 4B), apesar de apresentarem diferenças na forma de apresentação, mostram que os agrupamentos taxonómicos são consistentes entre as duas abordagens, confirmando assim as relações evolutivas entre os grupos analisados.

Considerações finais: Embora a filogenia, por si só, não seja suficiente para estabelecer com certeza associações entre vetores e agentes patogénicos (10), é uma ferramenta ideal para inferir possíveis padrões de transmissão de doenças (11) e para identificar espécies de vetores que merecem um estudo mais aprofundado (7), pois podem estar associadas a determinados agentes patogénicos. As análises filogenéticas são, portanto, essenciais para formular hipóteses e direcionar pesquisas futuras.

Referências Bibliográficas

- (1) De La Fuente, J., et al. "Tick-Pathogen Interactions and Vector Competence: Identification of Molecular Drivers for Tick-Borne Diseases." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 7, 2017, p. 114. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00114>
- (2) Jongejans, F., & Uilenberg, G. (2004). The global importance of ticks. *Parasitology*, 129(S1), S3–S14. <https://doi.org/10.1017/S00331182004006560>
- (3) Benson, D. A., et al. (2013). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D36–D42. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1195>
- (4) Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- (5) Felsenstein, J. (1981). Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17(6), 368–376. <https://doi.org/10.1007/BF01734359>
- (6) Kumar, S., et al. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- (7) Rosa, S., Maia, C., Loureiro, T., Severino, I., Figueiredo, M., Pina Martins, F., & Campino, L. (2024). *Island hitchhikers: Pathogen agents of Azores and Madeira ticks. Parasitology Research.*
- (8) De Sousa, R., Leal dos Santos, M., Cruz, C., Almeida, V., Garrote, A. R., Ramirez, F., Seixas, D., Manata, M. J., & Maltez, F. (2022). Rare case of rickettsiosis caused by *Rickettsia monacensis*, Portugal, 2021. *Emerging Infectious Diseases*, 28(5), 1068–1071. <https://doi.org/10.3201/eid2805.211836>
- (9) Mesquita, J. R., Santos-Silva, S., Moreira, A. de S., Baptista, M. B., Cruz, R., Esteves, F., Vala, H., & Barradas, P. F. (2022). *Rickettsia massiliae* circulation in sheep and attached *Rhipicephalus sanguineus* in Central Portugal. *Tropical Animal Health and Production*, 54(199).
- (10) Mongodin, E. F., et al. (2016). Recurrent evolution of host and vector association in bacteria of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato species complex. *BMC Genomics*, 17(1), 849.
- (11) Lemey, P., Rambaut, A., Drummond, A. J., & Suchard, M. A. (2009). Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Computational Biology*, 5(9), e1000520.

