



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS EDVALDO DE SOUZA DO Ó  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**MAURÍCIO LILIOSO DE LUCENA FILHO**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E VARIABILIDADE GENÉTICA EM  
POPULAÇÕES DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) DE  
MUNICÍPIOS DO AGRESTE PARAIBANO**

**CAMPINA GRANDE - PB  
2012**

**MAURÍCIO LILIOSO DE LUCENA FILHO**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E VARIABILIDADE GENÉTICA EM  
POPULAÇÕES DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) DE  
MUNICÍPIOS DO AGRESTE PARAIBANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

**ORIENTADOR: Dr. EDUARDO BARBOSA BESERRA  
CO-ORIENTADOR: Me. WALTER FABRÍCIO SILVA MARTINS**

**CAMPINA GRANDE – PB  
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

L935d

Lucena Filho, Maurício Liliroso de.

Distribuição espacial e variabilidade genética em populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Díptera: culicidae) de municípios do Agreste Paraibano [manuscrito]. Maurício Liliroso de Lucena Filho. – 2012.

50f. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.

“Orientação: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra, Departamento de Biologia”.

1. Mosquito da dengue. 2. Distribuição espacial. 3. Esterase. 4. Diversidade populacional.  
I. Título.

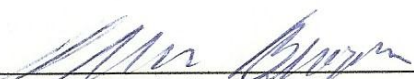
CDD 21. ed. 616

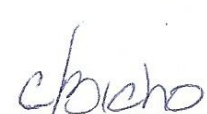
**MAURÍCIO LILIOSO DE LUCENA FILHO**


**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E VARIABILIDADE GENÉTICA EM  
POPULAÇÕES DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) DE  
MUNICÍPIOS DO AGRESTE PARAIBANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao curso de Graduação em Licenciatura Plena  
em Ciências Biológicas da Universidade  
Estadual da Paraíba, em cumprimento à  
exigência para obtenção do grau de  
Licenciado em Ciências Biológicas.

Aprovada em 25/04/2012.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra / UEPB  
Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Carla de Lima Bicho / UEPB  
Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Maria Avany Bezerra Gusmão / UEPB  
Examinadora

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela vida, saúde e por estar sempre no meu caminho, iluminando e guiando-me às escolhas certas.

A Universidade Estadual da Paraíba, pelo conhecimento proporcionado.

Ao professor Dr. Eduardo Barbosa Beserra, por ter me aceito em seu grupo de pesquisa, por toda orientação durante a minha graduação e deste projeto, pela amizade, confiança e incentivo.

Ao professor Walter Fabrício pela co-orientação.

Aos meus pais, Maurício Lilioso e Clélia Oliveira, por todo apoio, amor, educação e incentivo.

A HéliaThaiane, por todo amor, companheirismo, incentivo e confiança.

A toda equipe do antigo Controle Biológico, Wanessa Porto, Débora Lopes, Dairla Cândido, Renata Leandro, Alessandra Dias, Tatiane Quirino, Ingredy Albuquerque e Francisco Pires, pela amizade e colaboração.

## RESUMO

O *Aedes aegypti*, vetor da dengue e febre amarela, é um inseto cosmopolita, que necessita de constante monitoramento de suas populações. Atualmente, técnicas de georreferenciamento e análise genética de populações são ferramentas importantes para os sistemas de vigilância epidemiológica, controle do vetor e diminuição da incidência da dengue. Assim, este trabalho teve como objetivo comparar os padrões de distribuição espacial e variações genéticas entre 24 populações de *A. aegypti* coletadas na mesorregião do Agreste Paraibano. Os municípios de coleta foram Alagoa Grande, Alagoa Nova, Campina Grande, Esperança, Lagoa Seca e Serra Redonda. Os ovos dos mosquitos foram coletados utilizando-se armadilhas para coleta de ovos, a partir de bairros com altos índices de infestação do vetor – ponto A - e em bairros equidistantes a 500 m, 1.000 m e 1.500 m de distância do ponto A, constituindo os pontos B, C e D, respectivamente. Os ovos coletados foram levados ao laboratório para criação do mosquito, identificação e determinação do Índice de Infestação para Armadilha de Oviposição (IAO). Coordenadas geográficas para cada ponto de coleta foram obtidas e montada uma matriz de distâncias geográficas com o número dos quarteirões, o total de residências e/ou estabelecimentos positivos ou não. As análises de eletroforese foram realizadas no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos, da Universidade Estadual de Paraíba (UEPB). Nesse estudo foi observado que o IAO foi elevado, acima de 20%. A maior incidência do vetor foi constatada para o bairro Catolé, ponto C do município de Esperança, com IAO de 90%. A atividade esterásica foi visualizada através dos substratos  $\alpha$  e  $\beta$ -naftil acetato, possibilitando a visualização de seis regiões de  $\alpha$  e  $\beta$ -esterase, denominadas EST-1 a EST-6. A maior variabilidade genética foi observada para as amostras de *A.aegypti* do ponto D dos municípios de Serra Redonda e Alagoa Grande, pois correspondem às localidades com maior proporção de locos polimórficos, 66,67% e 50% respectivamente. Foi constatado um altíssimo Índice para Armadilha de Oviposição dentro dos municípios, bem como diferenças alélicas entre essas populações.

**Palavras-Chave:** Mosquito da dengue, distribuição espacial, esterase, diversidade populacional.

## ABSTRACT

The *Aedes aegypti*, vector of dengue and yellow fever is a cosmopolitan insect that needs monitoring finds their populations. Currently, georeferencing techniques and genetic analysis of populations are important tools for epidemiological surveillance systems, vector control and decrease the incidence of dengue. Thus, this study aimed to compare the spatial distribution and genetic variation among 24 populations of *A. aegypti* collected in the middle region of the Paraíba's Agreste. The municipalities were collecting Alagoa Grande, Alagoa Nova, Campina Grande, Esperança, Lagoa Seca and Serra Redonda, the eggs of mosquitoes were collected using trap to collect eggs, from neighborhoods with high rates of infestation of the vector - point A - and neighborhoods equidistant 500 meters, 1000 meters and 1500 meters from the point A, representing the points B, C and D, respectively. The eggs were taken to the laboratory for breeding places for mosquitoes, identification and determination of the Index to Infestation Oviposition Trap (IOT). Geographical coordinates of each sampling point were obtained, mounted on a geographical distance matrix with the number of blocks, the total number of homes and/or establishments positive or not. The electrophoresis analyzes were performed at the Laboratory of Entomology in Core Bioecology and Insect Systematics at the Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). In this study it was observed that the IOT was raised above 20%. The increasing incidence of vector was found for the neighborhood Catolé, point C of the City of Esperança with IOT 90%. The esterase activity was visualized using the substrate  $\alpha$  and  $\beta$ -naphthyl acetate, enabling visualization of six regions of  $\alpha$  and  $\beta$ -esterase called EST-1 to EST-6. The greatest genetic variability was observed for samples of *A. aegypti* from the point D of the municipalities of Serra Redonda and Alagoa Grande, they correspond to places with a higher proportion of polymorphic loci, 66.67% and 50% respectively. It has been found to trap a high index Oviposition within municipalities as well as allelic differences between these populations.

**Keywords:** Dengue mosquito, spatial distribution, esterase, population diversity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Municípios do Estado da Paraíba em que foram coletadas as amostras de <i>Aedes aegypti</i> .....	20
<b>Figura 2:</b> Armadilhas para coleta de ovos do <i>A. aegypti</i> , instaladas no intra (A) e peridomicílio (B).....	21
<b>Figura 3:</b> Sala de criação do Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos do Departamento de Biologia/UEPB.....	22
<b>Figura 4:</b> Eletroforese nativa em géis vertical de poliacrilamida 7,5%.....	23
<b>Figura 5:</b> Mapa dos locais de coleta no município de Campina Grande.....	25
<b>Figura 6:</b> Mapa dos locais de coleta no município de Esperança.....	26
<b>Figura 7:</b> Mapa dos locais de coleta no município de Lagoa Seca.....	27
<b>Figura 8:</b> Mapa dos locais de coleta no município de Alagoa Nova.....	28
<b>Figura 9:</b> Mapa dos locais de coleta no município de Alagoa Grande.....	29
<b>Figura 10:</b> Mapa dos locais de coleta no município de Serra Redonda.....	30
<b>Figura 11:</b> Freqüências alélicas observadas em seis locos de esterases em populações naturais de <i>Aedes aegypti</i> coletados no município de Serra Redonda ponto D.....	34
<b>Figura 12:</b> Dendograma revelando a análise de agrupamento entre populações de <i>A. aegypti</i> provenientes da Paraíba, baseado na presença e ausência de locos de esterases, pelo método UPGMA.....	41



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Pontos de coleta por Municípios, Coordenadas geográficas e índice. para Armadilha de Oviposição (IAO).....	32
<b>Tabela 2:</b> Frequências alélicas observadas em seis locos de esterase em vinte e uma amostras populacionais de <i>Aedes aegypti</i> .....	35
<b>Tabela 3:</b> Resumo da variação genética observada nas amostras populacionais de <i>Aedes aegypti</i> .....	36
<b>Tabela 4:</b> Estimativa de diversidade genética em populações de <i>Aedes aegypti</i> coletadas na mesorregião do agreste paraibano.....	38
<b>Tabela 5:</b> Níveis de diferenciação genética ( $F_{st}$ ) das populações de <i>Aedes aegypti</i> .....	40

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	12
2.1 Objetivo Geral.....	12
2.2 Objetivos Específicos.....	12
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
3.1 <i>Aedes aegypti</i> .....	13
3.2 Padrões de distribuição do <i>Aedes aegypti</i> .....	14
3.3 Variabilidade genética em populações de insetos.....	15
3.4 Utilização de marcadores moleculares para análise genética de populações de insetos.....	16
3.5 Eletroforese de isoenzimas na análise de expressão gênica de populações de insetos.....	17
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	20
4.1 Distribuição espacial e georeferenciamento de populações de <i>Aedes aegypti</i> .....	20
4.1.1 Coleta do <i>Aedes aegypti</i> .....	20
4.2 Bioensaio de laboratório.....	21
4.2.1 Análise da expressão do gene de esterase através de Eletroforese de Isoenzimas.....	22
4.3 Análise dos dados.....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	25
5.1 Distribuição espacial de populações de <i>Aedes aegypti</i> .....	25
5.2 Padrão eletroforético do gene de esterase.....	33
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	43
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	44

## 1 INTRODUÇÃO

O *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae) é um inseto cosmopolita, e devido a sua alta antropofilia e seu comportamento sinantrópico é atualmente o mosquito que apresenta a maior dispersão em áreas urbanas no mundo. Sua importância médica está na capacidade vetorial dos quatro sorotipos do vírus da dengue e do vírus amarelo (SILVA et al., 2004). Em função da inexistência de vacinas, o controle desse mosquito é a única forma de prevenção dessas arboviroses.

A amostragem e subsequente controle do *A. aegypti* é realizado através de um sistema pontual (FORATTINI, 2002), ignorando que os problemas com sua população se desenvolvam ao longo do tempo e do espaço.

Para se obter sucesso no manejo e controle do vetor, é essencial que se conheça a maneira como suas populações se distribuem, pois o esforço amostral e de controle deve se concentrar nos locais onde estão distribuídos os insetos e nas épocas propícias à ocorrência de surtos populacionais (BARCELLOS et al., 2005).

Informações sobre a distribuição espacial e georreferenciamento de populações de *A. aegypti* servem como orientação para o desenvolvimento e a implantação das ações de controle, pois ajudam na descoberta de pontos vulneráveis do inseto, que podem servir para o direcionamento das ações de controle (BARBOSA E LOURENÇO, 2010), e com isso diminuir os gastos e custos ambientais decorrentes do uso de técnicas inadequadas.

O controle das populações do *A. aegypti* ocorre prioritariamente por meio de métodos químicos. Porém, não é incomum a ocorrência de epidemias de dengue mesmo após a aplicação de inseticidas, quando há baixa densidade das populações do vetor. A razão desse fenômeno pode ser devido a sua eficiência reprodutiva, sua frequência na atividade hematofágica, aos níveis de viremia exigidos na transmissão do vírus, além da variabilidade genética de cada população do vetor (MARÇAL-JÚNIOR E SANTOS, 2004).

A caracterização da variabilidade genética presente nas populações naturais é uma ferramenta de grande utilidade para os programas de controle, pois a detecção de populações de vetores geneticamente distintas dentro de uma região pode ter importantes implicações na saúde pública uma vez que podem estar

associadas às variações comportamentais, ecológicas, estado fisiológico e caracteres epidemiológicos expressos pelo vetor.

A caracterização da biodiversidade molecular, através de marcadores genéticos, tem demonstrado grande potencialidade para estudos de genética de populações, biologia evolutiva e taxonomia, permitindo a caracterização da variabilidade e plasticidade genética das populações naturais (OOSTERHOUT et al., 2004). O conhecimento da base molecular dessa flexibilidade genética e os consequentes mecanismos que garantem a sua diversidade, associado ao conhecimento da estrutura genética das populações de mosquitos, podem contribuir substancialmente para o desenvolvimento de métodos de controle mais eficazes, pois fornecem informações úteis sobre o polimorfismo e os padrões de dispersão dos genes e dos vetores.

Atualmente, existem várias técnicas disponíveis para detectar polimorfismos de DNA, das quais podemos destacar: DNA mitocondrial (DNA mt), Polimorfismo do DNA Amplificado Randomicamente (RAPD), Isoenzimas, Polimorfismo do Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP), genes de RNA ribossomal (RNAr), sequenciamento e Microssatélite. Entre as vantagens apresentadas por estes marcadores moleculares, se destacam a necessidade de pequena quantidade de material biológico, facilidade de realização e automação em grande escala (MITCHELL-OLDS, 1995). Portanto, os marcadores moleculares constituem uma ferramenta eficiente nos estudos de biologia populacional e quando associado aos estudos de distribuição espacial e biologia do desenvolvimento, fornecem informações fundamentais para a definição de estratégias de controle de insetos vetores.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral:

Obter informações sobre a distribuição espacial e variabilidade genética de populações de *Aedes aegypti* coletadas em municípios da Paraíba.

### 2.2 Objetivos específicos:

- I- Caracterizar a distribuição espacial de populações de *A. aegypti*;
- II- Avaliar a expressão do gene de esterase em populações de *A. aegypti* através da eletroforese de Isoenzimas;
- III- Quantificar a variabilidade genética do gene de esterase nas populações *A. aegypti*, verificando a presença de variantes eletroforéticas e estimando índices de heterozigidade e polimorfismo.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 *Aedes aegypti*

Proveniente da África, e atualmente distribuído em quase todo o mundo, o *Aedes aegypti* é um inseto de grande importância epidemiológica por ser o principal vetor dos quatro sorotipos do vírus da dengue e da febre amarela urbana (LIMA JÚNIOR, 2007).

Devido principalmente a criadouros artificiais produzidos pelo homem, esse culicídeo, em seu processo evolutivo, passou a viver próximo a habitações humanas, desenvolvendo um comportamento estritamente sinantrópico e antropofílico, tornando-se o mosquito mais associado ao ser humano (NATAL, 2002). Essa sinantropia é tão intensa que o controle da dengue torna-se um grande desafio, pois além de analisar a relação inseto-homem, é necessário estudar as variáveis do ambiente a que o inseto pertence (BESERRA et al., 2010).

A fêmea do *A. aegypti* realiza a hematofagia na maioria das vezes no intradomicílio, sendo dificilmente percebida. Quando essa é interrompida antes de estar totalmente ingurgitada cessa o processo, podendo voltar ao mesmo hospedeiro ou a outro. O resultando dessa variação de hospedeiros, é a disseminação do vírus a vários deles, o que lhe confere relevante papel como vetor das arboviroses (BARATA et al., 2001).

De acordo com Donalísio e Glasser (2002), a alta transmissão da dengue pode estar relacionada com a maior longevidade do vetor adulto, em condições de temperatura e umidade da estação chuvosa, e não de sua densidade. Essa sobrevivência possibilita a probabilidade de as fêmeas infectadas completarem o período de replicação do vírus, tornando-se infectantes.

Entre os fatores que influenciam a transmissão da dengue estão às condições climáticas, a domiciliação, a dispersão dos vetores e a resistência a inseticidas (DONALÍSIO E GLASSER, 2002; GOMES et al., 2005).

### 3.2 Padrões de distribuição do *Aedes aegypti*

O *A. aegypti* é um mosquito com distribuição tropical e subtropical, localizada entre os paralelos de 45° de latitude norte e 40° de latitude sul. Essa distribuição, que se encontra em quase todo o globo terrestre, é decorrente por parte da atividade humana (FORATTINI, 2002), devido ao rápido crescimento e urbanização das populações, sem infra-estrutura básica de saneamento (REBÊLO et al., 1999).

Nas regiões que sofreram com a invasão desse culicídeo, a presença do mosquito assume o aspecto pontilhado, ou seja, com focos delimitados, entre os quais podem se intercalar regiões aonde ele está ausente. Porém, essa ausência poderá ser considerada como temporária, pois sempre existirá o potencial de se instalarem populações desse vetor (FORATTINI, 2002).

Atualmente, o *A. aegypti* pode ser encontrado em todos os estados do Brasil, e o número de municípios brasileiros nos quais tem sido assinalada a sua presença tem aumentado rapidamente nos últimos anos. As pesquisas que visam à análise da distribuição espacial de insetos vetores, cujo objetivo é o monitoramento e controle, vêm se ampliando nos últimos anos (BARATA et al., 2001; REBÊLO et al., 1999; SANTOS E CARVALHO, 2000).

Vários são os fatores envolvidos nos modelos de distribuições do *A. aegypti*, sendo desde fatores ambientais, tais como o clima, no qual incluem as precipitações pluviométricas e, principalmente, a temperatura, até fatores sociais, como a densidade demográfica e os níveis socioeconômicos (GLASSER E GOMES, 2002).

Donalísio e Glasser (2002) apontam ser fundamental o desenvolvimento de atividades de vigilância entomológica para o dimensionamento do impacto das medidas de controle e a orientação de ajustes nas ações prescritas pelos programas de controle de vetores e epidemias. Nesse sentido, técnicas voltadas para a coleta e o tratamento de informações espaciais para um objetivo específico, pode ser considerado muito útil na saúde pública (ARAÚJO et al., 2008).

Barbosa e Lourenço (2010), ao utilizar técnicas de análise espacial em análise da distribuição espaço-temporal da dengue e da infestação larvária no município de Tupã (SP), propiciando a visualização de áreas e aglomerados de recipientes com larvas, indicando que técnicas de geoprocessamento podem contribuir para ações de controle.

Honório et al. (2009) também analisaram a variação sazonal e espacial de larvas de *A. aegypti*, e verificaram o padrão de distribuição do *A. aegypti* e do *A. albopictus*, gerando mapas que apontaram os locais que indicam a abundância de densidade larvária.

Em estudo realizado em São José do Rio Preto (SP), Ferreira e Chiaravalloti Neto (2007) calcularam a infestação de área urbana por *A. aegypti* e associaram com os níveis socioeconômicos do município. Os dados dessa análise foram geocodificados, gerando mapas, o que melhor lhes conferiu um agrupamento por setores e a visualização das concentrações dos índices de infestação.

### **3.3 Variabilidade genética em populações de insetos**

O *A. aegypti* por ser um inseto ubiquista, suas populações nos mais diferentes ambientes passam por processos distintos, os quais podem resultar em organizações genéticas diferenciadas. Esse culicídeo, por sua vez, tem sido objeto de frequentes pesquisas no campo da genética (FORATTINI, 2002), pois populações resistentes a um determinado produto químico podem surgir como resultado de fatores genéticos, biológicos e operacionais (CARVALHO et al., 2004).

Após a terceira epidemia de dengue, em Santiago de Cuba, no ano de 1997, Bisset et al. (2005), coletaram e observaram diferentes populações de *A. aegypti* desse município, cujas cepas não apresentavam diferenças significativas entre as características morfológicas, e diferiam na resistência a inseticidas. Análises genéticas dessas populações revelaram que existia um polimorfismo genético entre as mesmas, o que poderia ter implicações para a ecologia e epidemiologia do vetor, influenciando no seu comportamento e fisiologia.

A heterozigose entre os insetos indica possíveis dificuldades na execução de ações de controle. Nesse sentido, em ações de controle epidemiológico, é importante conhecer a estrutura genética e os mecanismos que resultam na diversidade das populações (HIRAGI et al., 2009). Esse conhecimento pode auxiliar no estabelecimento do perfil genético dos insetos e na identificação de marcadores que aponte para populações resistentes ou potencialmente vetores de doenças (QUEIROZ, 2004).

No Brasil, país que a cada ano sofre com epidemias de dengue, várias pesquisas sobre a estrutura genética do *A. aegypti* também tem sido aplicada.



Paduan et al. (2006), verificaram um alto nível de polimorfismo e diferenciação genética, em onze localidades dentro de seis estados brasileiros. Costa-Ribeiro (2006) detectou elevada diferenciação genética aos níveis intra e interpopulacionais, de populações de *A. aegypti* em vários estados do Brasil. Gomes Júnior (2005) encontrou variações nos valores de heterozigosidade e polimorfismo em populações de *A. aegypti* dentro do município de Recife, Pernambuco.

A análise da variabilidade genética não se restringe apenas a insetos vetores. Vários trabalhos avaliam essa variabilidade em insetos pragas, a fim de subsidiar formas de controle mais eficazes. (BARRETO E QUINDERÉ, 2000; MONNERAT et al., 2004; SILVA et al., 2009).

### **3.4 Utilização de marcadores moleculares para análise genética de populações de insetos**

Marcadores moleculares são características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente. Com o objetivo de fornecerem dados que possibilitem determinar a estrutura e variabilidade genética de populações, diversas técnicas são utilizadas, como o Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP), análise de isoenzimas, Polimorfismo do DNA amplificado aleatoriamente (RAPD) e sequenciamento de DNA. Essas técnicas, ou tipo de marcadores moleculares, diferem em termos de sensibilidade, custo, facilidade de uso, tempo de execução e quantidade de DNA necessário (HODGKINSON et al., 2002).

Rampelotti (2008) diz que o uso de marcadores moleculares tem possibilitado descobertas nas diferentes áreas da biologia, através da caracterização e identificação de populações, raças e/ou espécies crípticas. O autor relata que estudos moleculares permitem entender a movimentação de biótipos ou genótipos dos insetos, sua estratégia e sucesso reprodutivo bem como o padrão de dispersão geográfica.

Pesquisas com espécimes de populações de campo geograficamente dispersos são cruciais para o reconhecimento de grupos de organismos geneticamente distintos ou dentro de espécies crípticas vetores de doenças. O entendimento de estratégias adequadas e eficazes programas de controle estão dependentes dos resultados dessas análises (HODGKINSON et al., 2002). Assim, o

uso de marcadores nos fornece a base de dados para a análise da genética de populações.

Paduan e Ribolla (2008), realizaram um estudo em 12 populações de *A. aegypti* a partir de cinco Estados brasileiros, e verificaram que a análise de variância molecular mostrou diferenças significativas na estrutura genética entre coleções dentro dos grupos. Análises genéticas mostraram uma concordância entre as distâncias geográficas e, principalmente, em relação a populações do Norte e Nordeste, em comparação com as do Sudeste.

Em um estudo preliminar de genética de populações de *A. aegypti* no México, Ravel et al. (2001) utilizaram microssatélites e Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos Amplificados (AFLP) para analisar a diversidade genética de populações desse inseto de diferentes bairros de duas cidades. Embora os microssatélites utilizados mostrassem um polimorfismo limitado, eles permitiram a discriminação dos mosquitos entre o Norte e o Sul de um distrito. E na análise pelos marcadores AFLP foi possível observar a agregação de indivíduos da mesma cidade e do mesmo bairro.

Como já mencionado acima, com a intenção de aprimorar as formas de controle dos insetos, os marcadores moleculares estão sendo bastantes aplicados em pesquisas com insetos praga, a exemplo de recentes trabalhos que têm demonstrado a existência de biótipos de insetos associados a plantas hospedeiras. Busato et al (2004) utilizaram marcadores AFLP e identificaram biótipos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) ocorrendo em lavouras de milho e arroz. Sosa-Gómez et al (2004) caracterizaram populações de *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae), por meio de marcadores RAPD, e demonstraram que as populações estudadas diferem entre si e são geograficamente isoladas.

### **3.5 Eletroforese de isoenzimas na análise de expressão gênica de populações de insetos**

Nos últimos anos, várias pesquisas envolvendo genética de populações têm sido realizadas com *A. aegypti*. Os primeiros estudos realizados para avaliar a variabilidade nesses mosquitos foram baseados em técnicas de eletroforese em gel

de amido e poliacrilamida (LIMA JÚNIOR, 2007), técnica já conhecida desde 1930 e que foi difundida em 1950-1960.

A eletroforese é uma técnica usada para separar e purificar macromoléculas, como por exemplo, proteínas e ácidos nucléicos, que variam em tamanho, carga ou conformação. Ela consiste na movimentação de moléculas submetidas a campo elétrico, em que as proteínas são separadas por cargas e peso molecular. É relativamente simples, rápida e de alto valor informativo (ALFENAS et al., 1991). Os géis mais usados nesse método são o gel de agarose, que é um polissacarídeo extraído das algas, atóxico com baixo poder de resolução, e alto grau de separação dos fragmentos; e o gel de poliacrilamida, que é um polímero de acrilamida, tóxico e que ao contrário do gel de agarose, tem um menor grau de separação, e um alto poder de resolução.

Isoenzimas, por sua vez, são as diferentes formas bioquímicas de uma enzima, com afinidade para um mesmo substrato, as quais podem ser identificadas por migração e coloração em gel (PINTO et al., 2001). Elas constituem uma importante fonte de marcadores genéticos, que podem ser empregadas em vários programas experimentais teóricos e práticos. Apresentam, também, algumas vantagens, tais como permitir a análise de vários locos simultaneamente; os alelos de cada loco são codominantes, permitindo a identificação de heterozigotos; medir a variabilidade a um nível mais próximo do DNA do que outras características fenotípicas, pois constituem um produto direto da ação gênica; determinar a diversidade genética dentro e entre populações naturais e sua vulnerabilidade (ALFENAS et al., 1991).

Desta forma, as isoenzimas têm sido utilizadas no estudo de dispersão de espécies, na análise de filogenias, no melhoramento de plantas, na identificação de variedades e na seleção indireta de caracteres.

Na pesquisa de Ribeiro (2006), que teve como objetivo avaliar a estrutura genética de *A. aegypti* em caráter espaço-temporal, foram utilizados três marcadores: isoenzimas, microssatélites e DNA mitocondrial. Os resultados baseados nos marcadores de isoenzimas e microssatélites evidenciaram baixo fluxo gênico entre as populações de *A. aegypti*, em escalas microrregional e macrorregional. O uso de marcadores isoenzimáticos também foi importante na caracterização e diferenciação genética entre as duas subespécies: *A. aegypti*

*formosus* e *A. aegypti aegypti* (POWEL E TABACHNICK, 1980; WALLIS E TABACHNICK, 1983; WALLIS E TABACHNICK, 1990).

Augustin et al. (1999) utilizaram eletroforese em gel de poliacrilamida para análises de esterase em formigas de colônias de *Acromyrmex heyeri*, com o objetivo de desenvolver um meio seguro de identificação de espécies do gênero *Acromyrmex*. Cantagalli et al. (2010), utilizando o mesmo método, analisaram a estrutura genética de populações de *Atta capiguara* (Hymenoptera: Formicidae) de 12 ninhos coletados em Tapejara no estado do Paraná.

Com o objetivo de verificar a variabilidade genética em uma população do bicho-mineiro com base nos fenótipos isoenzimáticos de a-esterase, nas fases de desenvolvimento do inseto, Bueno et al. (2003), submeteram as lagartas, crisálidas e adultos deste inseto à eletroforese em gel de poliacrilamida, onde os dados foram analisados conforme os polipeptídios formados para as aloenzimas e os fenótipos foram comparados por estudos filogenéticos entre e dentro de cada fase do inseto. Assim, dentre algumas das conclusões, Bueno e colaboradores observaram que existe uma grande variabilidade genética entre e dentro de cada ciclo de vida do *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Distribuição espacial e georeferenciamento de populações de *Aedes aegypti*

A pesquisa foi conduzida estudando-se populações de *A. aegypti* coletadas em seis municípios localizados na mesorregião do Agreste Paraibano: 1- Campina Grande; 2- Esperança; 3- Lagoa Seca; 4- Alagoa Nova; 5- Alagoa Grande e 6- Serra Redonda (FIGURA 1)

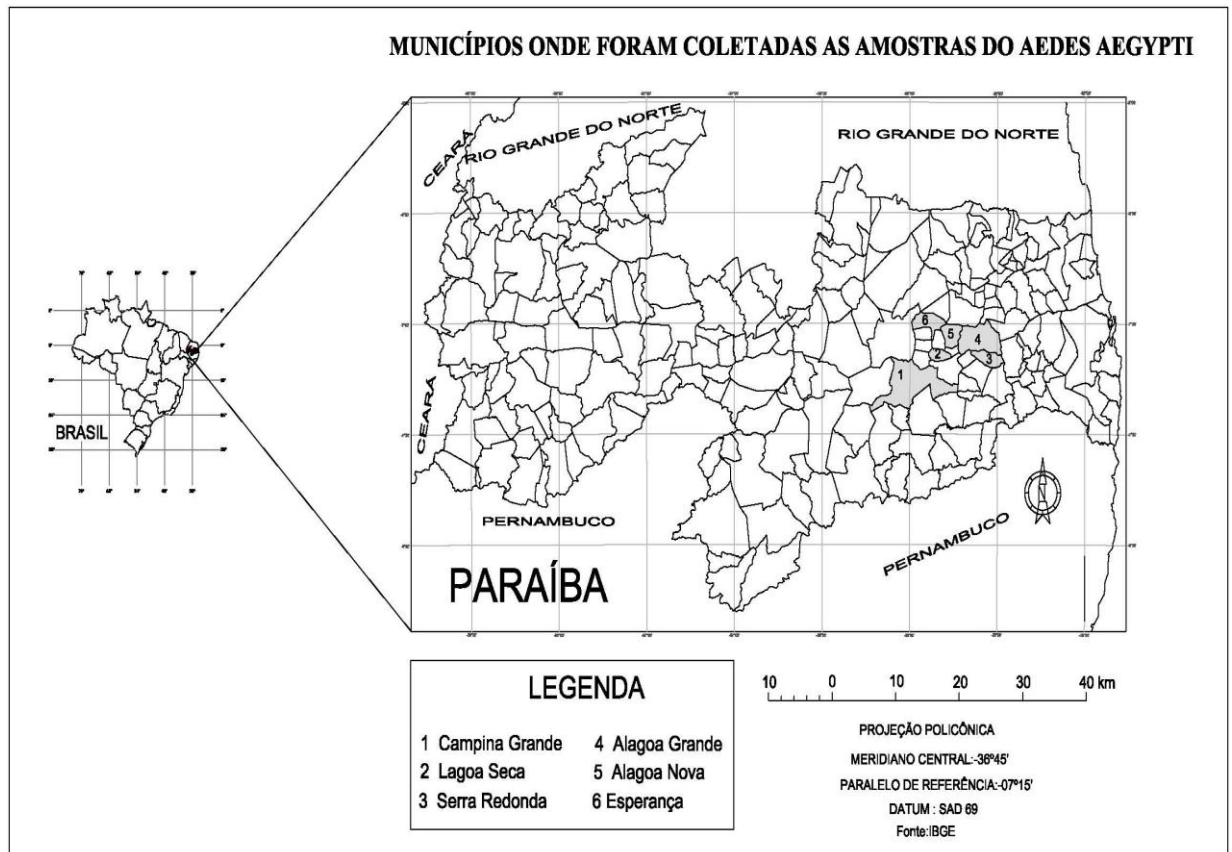


Figura 1: Municípios do Estado da Paraíba em que foram coletadas as amostras de *Aedes aegypti*, 2009.

#### 4.1.1 Coleta de *Aedes aegypti*

As coletas de populações de *A. aegypti* foram realizadas no período de 01 de fevereiro a 03 de abril de 2009, a partir de bairros com altos índices de infestação do vetor de acordo com a Secretaria de Saúde de cada município – ponto A - e em

bairros equidistantes localizados a 500m, 1.000m e 1.500m de distância do ponto A, constituindo os pontos B, C e D, respectivamente.

Nas áreas definidas como pontos A, B, C e D, foram instaladas 30 armadilhas para coleta de ovos, distribuídas no intra e peridomicílio das residências escolhidas ao acaso (FIGURA 2). As armadilhas foram recolhidas a cada quatro dias após a instalação. O material coletado foi acondicionado em caixas térmicas de isopor e trazido para o laboratório para a quantificação dos ovos.

As palhetas, contendo os ovos, foram colocadas em bandejas plásticas, contendo água destilada. Algumas amostras de larvas (L<sub>4</sub>) eram montadas em lâminas sob microscópio e para a confirmação da espécie com a utilização da chave dicotômica contida em Forattini (2002).



Figura 2: Armadilhas para coleta de ovos do *A. aegypti*, instaladas no intra (A) e peridomicílio (B).

#### 4.2 Bioensaio de Laboratório

Os testes eletroforéticos e as criações das populações de *A. aegypti* foram conduzidos no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos da Universidade Estadual de Paraíba (UEPB), em salas climatizadas a

temperatura de  $\pm 26^{\circ}\text{C}$  e fotofase de  $\pm 12$  horas (FIGURA 3). A metodologia de criação de *A. aegypti* seguiu aquela definida em Beserra et al. (2006, 2007) e Beserra e Castro-Júnior (2008).



Figura 3: Sala de criação do Laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos do Departamento de Biologia/UEPB.

#### 4.2.1 Análise do gene de esterase através de eletroforese de Isoenzimas

Das vinte e quatro amostras de populações de *A. aegypti* coletadas na mesorregião do Agreste Paraibano, apenas vinte foram submetidas à eletroforese de isoenzimas. Por falta de eclosão das larvas não foram possíveis essas análises para as populações do ponto B de Lagoa Seca, do ponto D de Campina Grande e dos pontos B e D de Esperança.

As larvas da primeira geração de laboratório ( $F_1$ ) de cada população de *A. aegypti* ( $n= 36$ ) foram homogeneizadas em 50  $\mu\text{l}$  de tampão de extração Tris-HCl 0,5 M, pH 6,8 sob resfriamento, e posteriormente, centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min/  $4^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, o sobrenadante foi transferido para microtubos de 2.0 ml com auxílio de uma pipeta de precisão e adicionou-se 3 $\mu\text{L}$  de azul de bromofenol. Posteriormente, armazenados em freezer até o momento das análises eletroforéticas.

Os géis de poliacrilamida 7,5% em tampão Tris-glicina pH 8,9 foram preparados adicionando 9,0 ml de acrilamida, 350  $\mu$ L de persulfato de amônia, 35  $\mu$ L de Temede, 3,5 ml tampão tris – glicina, 22,5 ml de água destilada. O tampão de corrida tris-glicina, pH 8.9 (10x), para o sistema enzimático examinado, foi feito com 63,2 g de Tris Base; 39,9 g de glicina, adicionando-se aproximadamente 900 ml de água destilada, diluindo 1:10 antes do uso.

Foram submetidas à eletroforese nativa em géis vertical de poliacrilamida 7,5% (FIGURA 4), 15 $\mu$ L das amostras armazenadas. A corrida eletroforética foi conduzida à amperagem 0,70A e voltagem de 170 V / 5h. Posteriormente, o gel foi submetido à coloração histoquímica específica para o sistema enzimático Esterase (EST, EC 3.1.1.1), realizada com 0,015 g de  $\alpha$ -naftil acetato, 0,020 g de  $\beta$ -naftil acetato, 0,050 g de Fast blue RR salt. Os substratos  $\alpha$  e o  $\beta$ -naftil acetato foram diluídos em 2 ml de acetona e 2 ml de água, e o Fast blue RR salt em 10 ml de tampão fosfato (C + D), homogeneizou-se a solução e completou o volume para 50 ml com tampão fosfato (C + D). A revelação enzimática foi realizada em estufa a 37°C durante 1 hora. O processo de fixação foi realizado seguindo a metodologia descrita por Alfenas et al. (1991).



Figura 4: Eletroforese nativa em géis vertical de poliacrilamida 7,5%.



### 4.3 Análise dos dados

Para a confecção dos mapas da distribuição espacial dos pontos de coleta do *A. aegypti* foi utilizada a carta SB-25-Y-C-I como base de escala 1/100.000, constando os municípios que fazem parte da área de estudo. O material cartográfico está disponibilizado no portal da AESA (Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba) e sua modificação foi feita a partir de um programa do tipo CAD (Computer Aided Design).

Para o georreferenciamento dos municípios foi utilizado um GPS Garmin de navegação (Sistema de Posicionamento Global), com projeção UTM e “Datum” planimétrico SAD 69. As coordenadas dos pontos de coleta do *A. aegypti* foram inseridas no mapa já georreferenciado, para que fosse possível mostrar sua distribuição real no espaço.

Os números de ovos foram tabulados utilizando-se o programa Excel/Windows.

A análise dos zimogramas foi realizada seguindo a nomenclatura descrita por Tabachnick e Powell (1979), em que locos e alelos foram designados por números. A avaliação quantitativa (densitometria) dos zimogramas ocorreu através da variação na intensidade das bandas observadas nos géis.

As frequências alélicas, as taxas de heterozigose e o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg foram calculados através dos programas TFGA – Tools for Population Genetic Analysis (MILLER, 1997).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Distribuição espacial de populações de *Aedes aegypti*

Os mapas construídos a partir deste estudo mostram a distribuição real no espaço e indicam com precisão a localização das populações de *A. aegypti* (Figuras 5 a 10), e, com isso, contribuir para a tomada de decisões que controlem de maneira efetiva esse vetor na região de estudo.

As coletas realizadas no município de Campina Grande abrangeram os bairros de Centenário (A, B), São José (C) e Santa Rosa (D) (Figura 5), onde foram recolhidos 449 ovos. Nesse município, o ponto B apresentou o maior Índice para armadilha de Oviposição (IAO), 37,04%; o menor IAO foi verificado no ponto C, 20,00%.

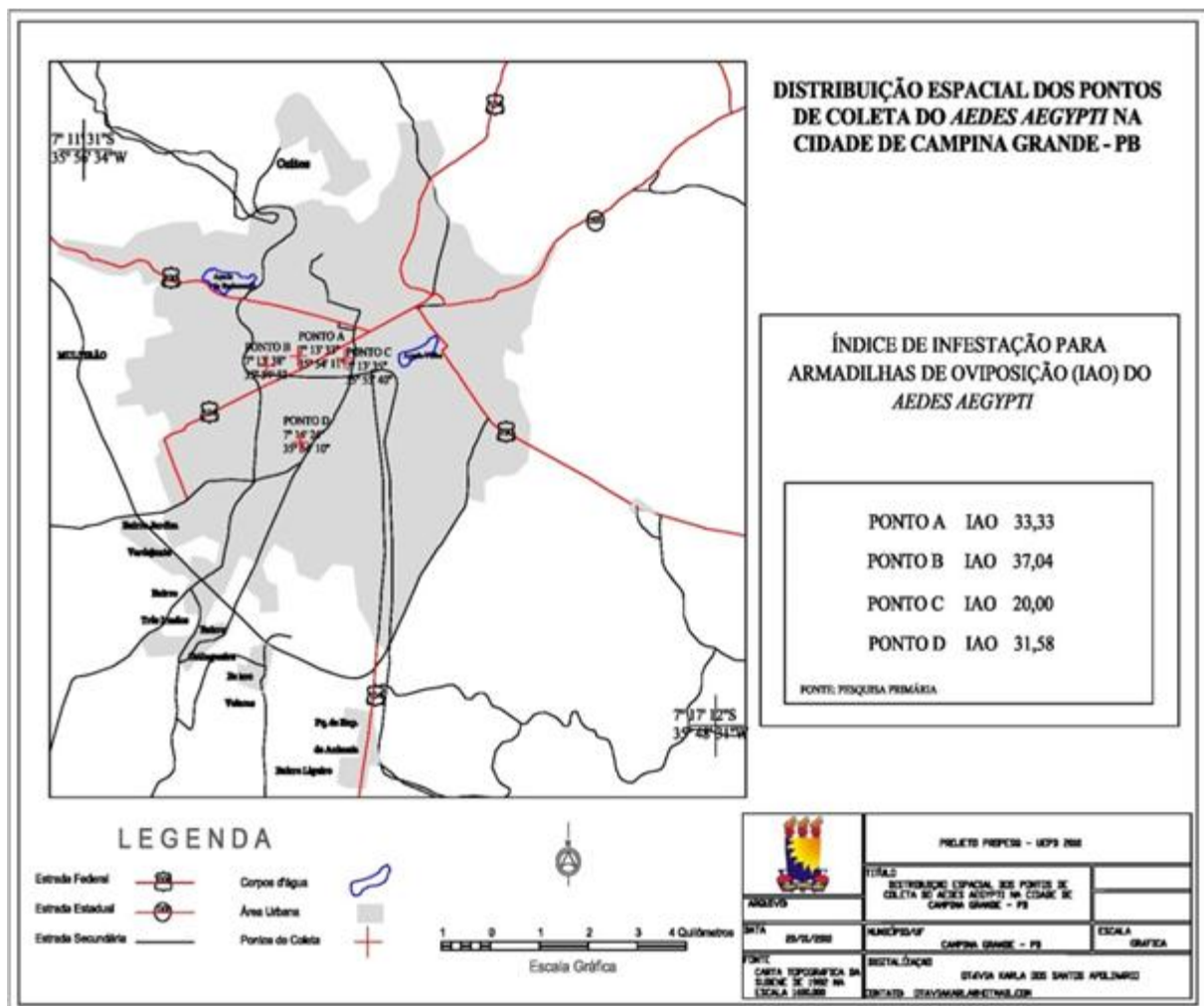


Figura 5: Mapa dos locais de coleta no município de Campina Grande – PB, 2009.

Em Esperança, as coletas abrangeram os bairros do Britador (A), Bela Vista (B), Catolé (C) e na região do Sítio Imburana (D) (FIGURA 6), onde foram coletados 2.502 ovos. O IAO foi muito alto para o bairro do Catolé (90%). Esse alto índice pode ser explicado devido às condições precárias de saneamento básico observadas no local de coleta. Nos demais pontos, o índice variou em 46,43% a 56,66%.

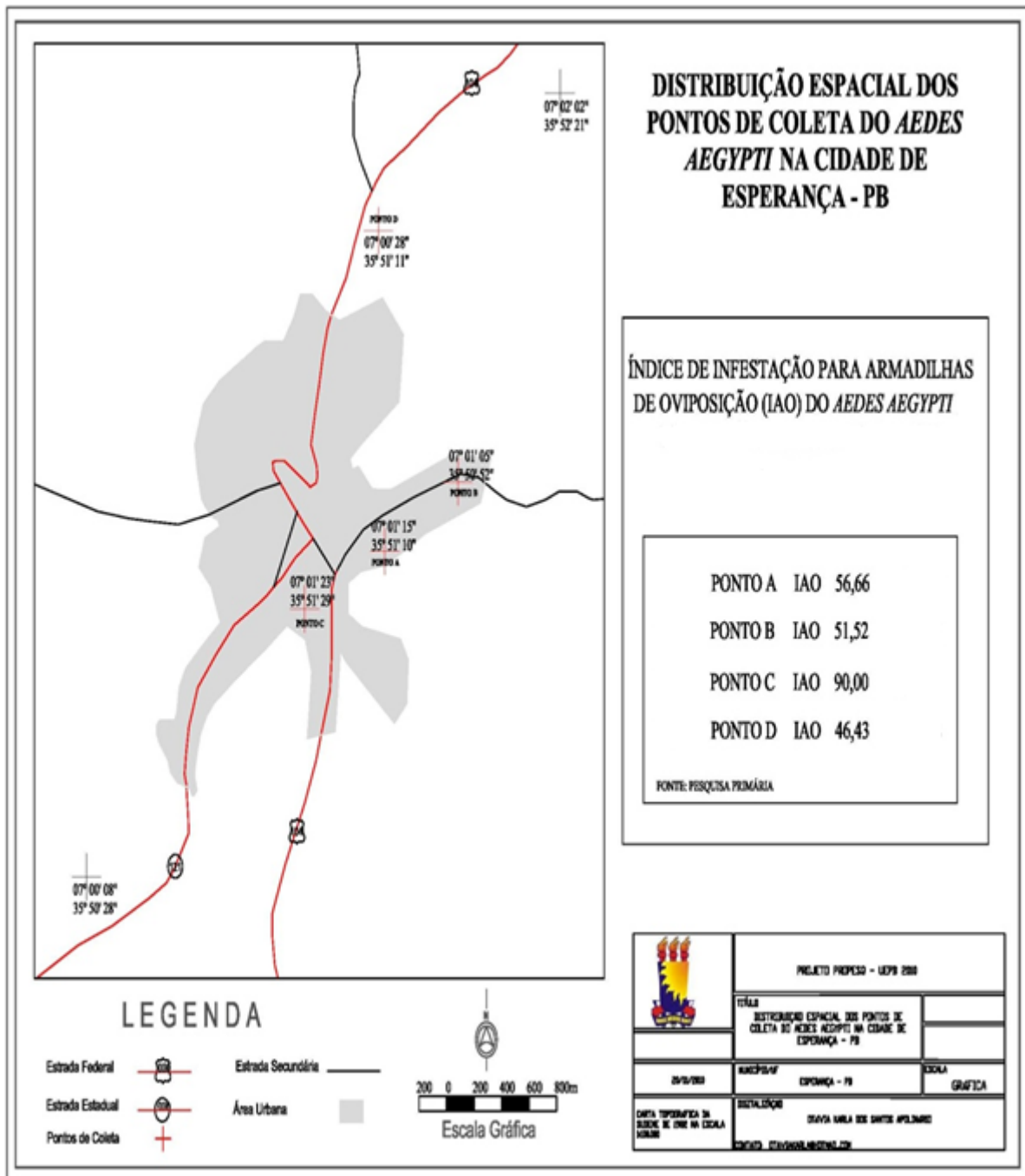


Figura 6: Mapa dos locais de coleta no município de Esperança – PB, 2009.

As coletas realizadas em Lagoa Seca abrangeram os bairros de Monte Alegre (A), Centro (B, C) e Novo Horizonte (D) (FIGURA 7), recolhendo-se 1.452 ovos. O maior IAO nesse município foi verificado no ponto C (58,06%). No entanto, todos os demais pontos apresentaram valores próximos a 45% de imóveis investigados com a presença do vetor.

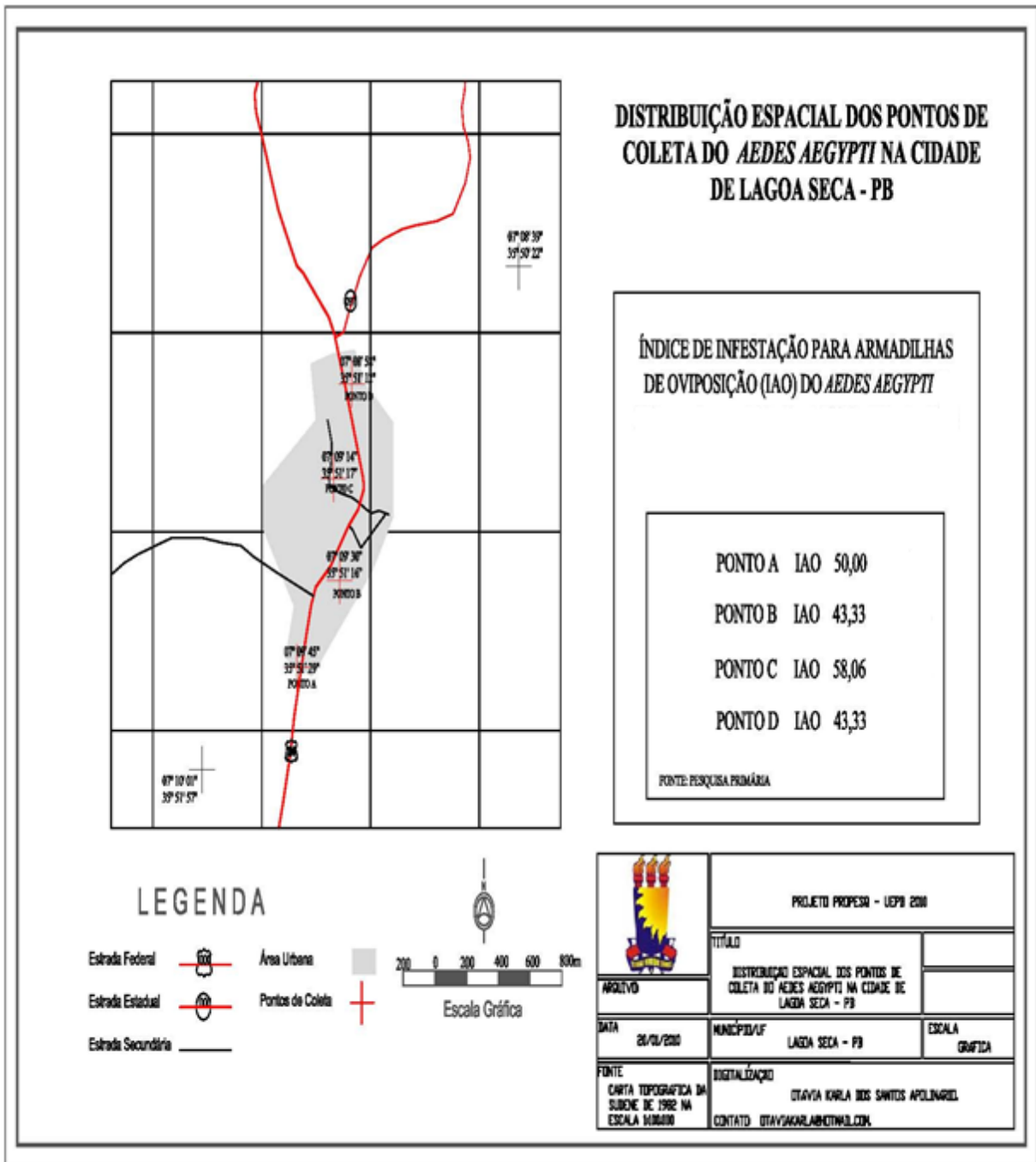


Figura 7: Mapa dos locais de coleta no município de Lagoa Seca – PB, 2009.

As coletas em Alagoa Nova abrangeram três áreas no Centro da cidade (A, B e C) e uma no bairro de Nossa Senhora Aparecida (D) (FIGURA 8), com um total de 1.658 ovos coletados. O maior IAO foi verificado no ponto C (53,33%). Uma grande quantidade de criadouros do mosquito foi observada nos pontos A, B e C.

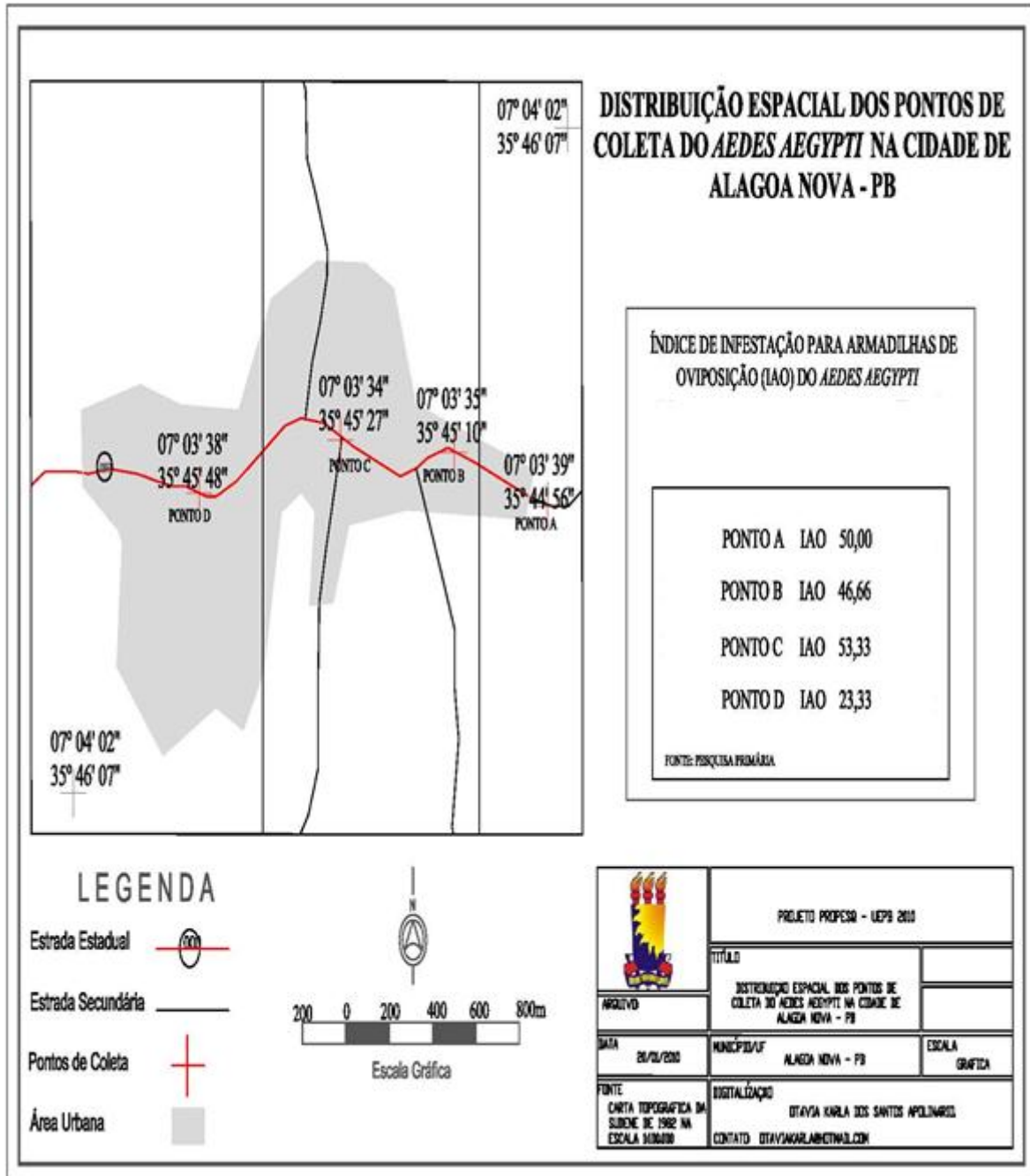


Figura 8: Mapa dos locais de coleta no município de Alagoa Nova – PB, 2009.

Em Alagoa Grande, as coletas também foram realizadas em três áreas no Centro da cidade (A, B e C) e uma no Conjunto Agnaldo Veloso Borges (D)

(FIGURA 9), com um total de 1.227 ovos coletados. Nesse município, o IAO foi igual ou superior a 60% nos pontos A, B e C. No ponto D observou-se o menor índice, (42,86%).

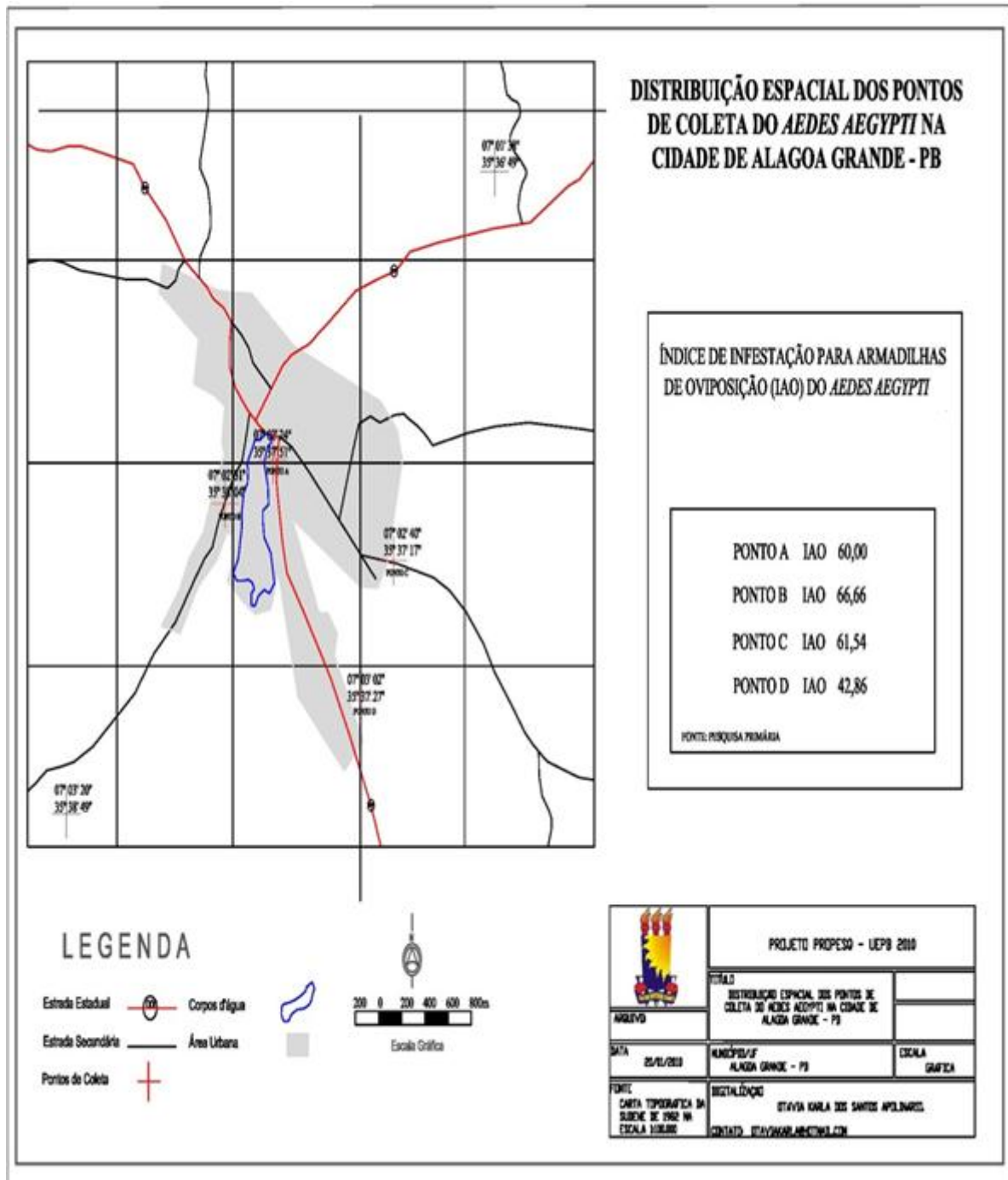


Figura 9: Mapa dos locais de coleta no município de Alagoa Grande – PB, 2009.

As coletas realizadas no município de Serra Redonda abrangeram uma área no bairro do Mariz II (A), e as demais no Centro da cidade (B, C e D) (FIGURA 10),

onde foram recolhidos 2.893 ovos. O IAO foi muito alto nos pontos A, B e C. Nesses locais foi observada uma grande quantidade de terrenos baldios contendo “reservatórios artificiais” de água parada, bem como várias casas com diversos reservatórios de armazenamento de água, propiciando lugares favoráveis para a procriação do vetor. O menor IAO foi no ponto D (42,86%).

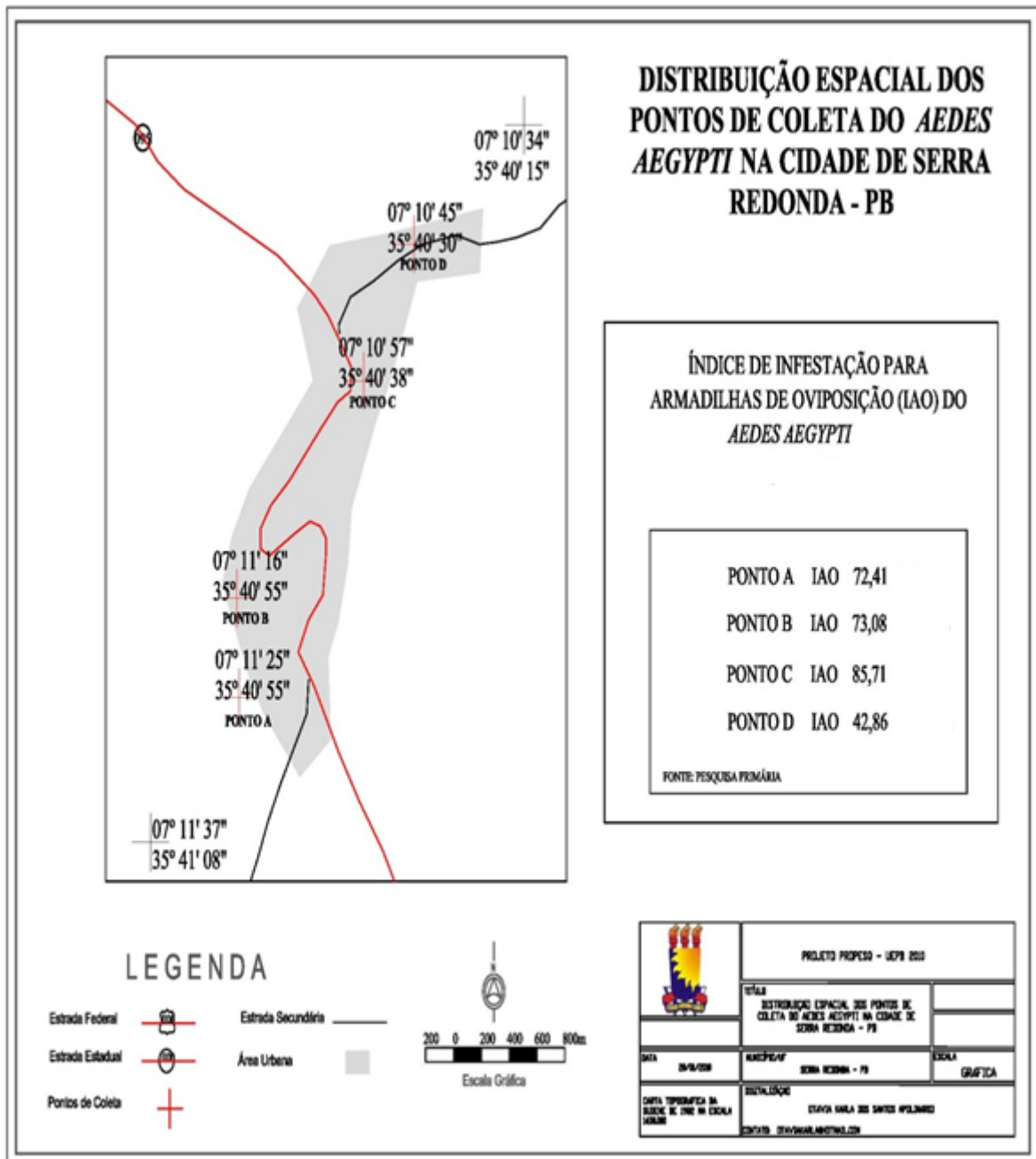


Figura 10: Mapa dos locais de coleta no município de Serra Redonda – PB, 2009.

O *A. aegypti* tinha como habitat as florestas, onde realizavam suas posturas em buracos de árvores e em bromélias. Mas devido à grande quantidade de

criadouros proporcionados pelo homem, esta espécie tornou-se intimamente urbana e antropofílica (REBÊLO, 1999). A distribuição desse inseto sofre influência de vários fatores, podendo estar relacionada com as condições ambientais e sociais (DONALÍSSIO E GLASSER, 2002), o que não torna a incidência desse mosquito um padrão para as diversas localidades.

Nesta pesquisa, o sistema de informação geográfica nos possibilitou a visualização dos dados, nos mostrando com precisão as áreas exatas com concentração do vetor. Araújo (2008) cita que a distribuição geográfica da dengue tem sido considerada desigual entre as regiões, e dentro das próprias regiões, o que corrobora os nossos resultados, uma vez que o índice de armadilha de oviposição mostrou-se diferente entre os municípios e dentro dos municípios (TABELA 1).

Nesse sentido, vários estudos com o intuito de georreferenciar esse culicídeo vêm sendo realizados. Barcellos et al. (2005), em busca de modelo de prevenção da dengue, utilizam técnicas de georreferenciamento. E analisam as localizações dos casos de dengue e a presença do *A. aegypti* em Porto Alegre (RS), os autores identificaram fatores sócio-ambientais que afetam a presença de ambos.

Em São José do Rio Preto (SP), Costa e Natal (1998) observaram que a incidência da dengue não apresenta um aspecto homogêneo na cidade. Nesse caso, o nível de incidência da arbovirose esteve relacionado com determinantes socioeconômicos, em que o coeficiente de incidência da dengue foi mais elevado em área com menor nível socioeconômico. Porém, Barcellos (2005) mostrou que os setores com casos da doença são de alta renda.

Alguns trabalhos relacionam e avaliam a dispersão do *A. aegypti* em relação ao clima. Leandro et al. (2010) verificaram que tanto o índice de densidade de ovo, como o índice de positividade para armadilhas de oviposição desse culicídeo foi maior nos meses em que houve um aumento de temperatura e da pluviosidade. Porém, neste presente estudo esse fator não foi levado em consideração, uma vez que as localidades são da mesma região e que as coletas foram realizadas na mesma época do ano.



Tabela 1. Pontos de coleta por Municípios, Coordenadas geográficas e índice para Armadilha de Oviposição (IAO).

Municípios / Pontos de Coleta		Bairros	Coordenadas geográficas	IAO
Campina Grande	A	Centenário	07° 13.558 S 035° 54. 232O	33,33
	B	Centenário	07° 13.660 S 035° 54.535 O	37,04
	C	São José	07° 13.603S 035° 53. 6810 O	20,00
	D	Santa Rosa	07° 14. 408 S 035° 54.183 O	31,58
Esperança	A	Britador	07° 01.247 S 035° 51.192 O	56,66
	B	Bela Vista	07° 01.116 S 035° 50.924 O	51,52
	C	Catolé	07° 01.449 S 035° 51.509 O	90,00
	D	Sítio Imburana	07° 00.438 S 035° 51.195 O	46,43
Lagoa Seca	A	Monte Alegre	07° 09. 759 S 035° 51. 490 O	50,00
	B	Centro	07° 09. 530 S 035° 51. 321 O	43,33
	C	Centro	07° 09. 246 S 035° 51. 319 O	58,06
	D	Novo Horizonte	07° 08. 994 S 035° 51. 221 O	43,33
Alagoa Grande	A	Centro	07° 02.347 S 035° 37.853 O	60,00
	B	Centro	07° 02.541 S 035° 38.097 O	66,66
	C	Centro	07° 02. 680 S 035° 37. 386 O	61,54
	D	Conjunto Agnaldo Veloso	07° 03. 086 S 035° 37. 511 O	42,86
Serra Redonda	A	Mariz II	07° 11. 493 S 035° 40. 962 O	72,41
	B	Centro	07° 11. 219 S 035° 40. 900 O	73,08
	C	Centro	07° 11. 013 S 035° 40. 698 O	85,71
	D	Centro	07° 10. 781 S 035° 40. 561 O	42,86
Alagoa Nova	A	Centro	07° 03. 679 S 035° 44. 921 O	50,00
	B	Centro	07° 03. 609 S 035° 45. 184 O	46,66
	C	Centro	07° 03. 581 S 035° 45. 489 O	53,33
	D	Nossa Senhora Aparecida	07° 03. 644 S 035° 45. 742 O	23,33

A densidade populacional é outro fator com influência na dispersão do *A. aegypti*. No Rio de Janeiro (RJ), Honório et al. (2009) verificaram que áreas densamente povoadas eram áreas de presença do *A. aegypti*. No caso desta pesquisa, a cidade com menor índice de oviposição, Campina Grande, é a de maior densidade demográfica (IBGE, 2010). Porém, os demais municípios apresentaram em média, uma maior densidade nos pontos de coletas e um maior número de pessoas em uma mesma residência, como é o caso de Serra Redonda e o ponto C da cidade de Esperança. Esse fato gera uma maior quantidade de resíduos sólidos e, conseqüentemente, um maior número de criadouros artificiais. Há também uma maior oferta alimentar para hematofagia, uma vez que as fêmeas habitualmente ficam no intradomicílio, próximas a sua fonte alimentar.

O abastecimento de água também tem sido citado como elemento que propicia a dispersão do *A. aegypti* (CAPRARA et al., 2009; FORATTINI 2002). Entretanto, nas coletas pode-se observar que não é bem a inexistência de abastecimento de água que contribui para a dispersão do mosquito, mas sim a sua irregularidade, pois essa carência faz com que moradores armazenem água em tanques e tambores, sendo esses tipos de depósitos os mais frequentados pelos *A. aegypti*. De acordo com Martins et al. (2010), em uma pesquisa realizada em Fortaleza (CE), observaram a distribuição espacial e as características dos criadouros de *A. albopictus* e *A. aegypti*.

No presente trabalho foram coletados um total de 10.184 ovos, que foram encontrados em todos os pontos de todos os municípios, ocorrendo de forma desigual entre eles e dentro deles. As particularidades de cada um irão influenciar a ecologia do vetor.

Campina Grande, por apresentar um menor IAO em relação às demais localidades, não corre menos risco de epidemias de dengue, pois é a cidade pólo de todos esses outros municípios, o que potencializa a chance de ocorrerem casos alóctones.

## **5.2 Padrão eletroforético do gene de esterase**

Um sistema enzimático, isoenzima esterase, analisado pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, revelou a presença de seis locos de  $\alpha$  e  $\beta$ -

esterase denominados: Est-1, Est-2, Est-3, Est-4, Est-5 e Est-6. Os padrões isoenzimáticos observados em esterase são apresentados na figura 11.

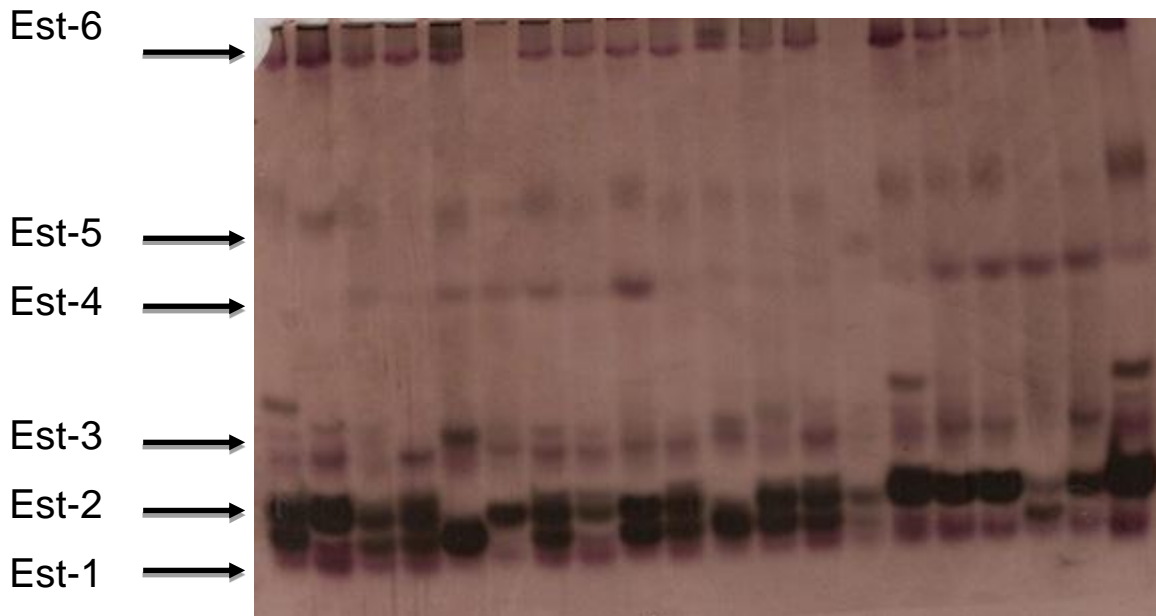


Figura 11: Frequências alélicas observadas em seis locos de esterases em populações naturais de *A. aegypti* coletados no município de Serra Redonda (ponto D) – PB, 2009.

Dois locos apresentaram apenas um alelo (Est-3, Est-6), três locos apresentaram dois alelos (Est-1, Est-4, Est-5) e apenas um loco apresentou três alelos (Est-2), com predominância de três locos em 38% das populações, com intensidade forte, média e fraca observada em várias regiões do gel.

Esta heteroziguidade revelada pelo loco Est-2, pode estar desvendando um processo de seleção, ou adaptação, de insetos com estas isoenzimas. Porém, isto só pode ser confirmado por meio de estudos experimentais, como por exemplo, estudos relacionados à resistência a inseticidas.

O padrão dos seis locos avaliados revelou a presença de 13 alelos (Est-1<sup>1</sup>, Est-2<sup>1</sup>, Est-2<sup>2</sup>, Est-2<sup>3</sup>, Est-3<sup>1</sup>, Est-3<sup>2</sup>, Est-4<sup>1</sup>, Est-4<sup>2</sup>, Est-5<sup>1</sup>, Est-5<sup>2</sup>, Est-5<sup>3</sup>, Est-6<sup>1</sup> e Est-6<sup>2</sup>), sendo que o alelo Est-2<sup>2</sup> foi o único presente em todas as populações analisadas, com frequências alélicas variando entre 0,083 e 1 (TABELA 2).

Tabela 2: Frequências alélicas observadas em seis locos de esterase em vinte e uma amostras populacionais de *Aedes aegypti*.

População/ Pontos de Coleta	Frequências Alélicas em Esterase													
	Loco 1		Loco 2		Loco 3		Loco 4		Loco 5		Loco 6			
	Est- 1 <sup>1</sup>	Est- 2 <sup>1</sup>	Est- 2 <sup>2</sup>	Est- 2 <sup>3</sup>	Est- 3 <sup>1</sup>	Est- 3 <sup>2</sup>	Est- 4 <sup>1</sup>	Est- 4 <sup>2</sup>	Est- 5 <sup>1</sup>	Est- 5 <sup>2</sup>	Est- 5 <sup>3</sup>	Est- 6 <sup>1</sup>	Est- 6 <sup>2</sup>	
Alagoa Grande	A	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,533	0,467	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,611	0,389
	C	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
	D	1,000	0,000	1,000	0,000	0,765	0,235	0,029	0,000	0,000	1,000	0,000	0,545	0,455
Alagoa Nova	A	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
	B	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
	C	0,000	0,000	0,889	0,111	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
	D	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,868	0,132	0,000	0,000
Serra Redonda	A	0,000	0,514	0,100	0,386	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,682	0,318
	B	1,000	0,000	0,857	0,143	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,452	0,548	0,000	0,000
	C	0,000	0,431	0,486	0,083	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,106	0,894	0,000	0,000
	D	1,000	0,042	0,958	0,000	0,280	0,720	1,000	0,000	0,000	0,596	0,404	0,611	0,389
Campina Grande	A	0,000	0,000	0,639	0,361	0,000	0,000	1,000	0,000	0,094	0,578	0,328	0,000	0,000
	B	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,500	0,500	0,000	0,000
	C	0,000	0,917	0,083	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,400	0,167	0,433	0,000	0,000
Lagoa Seca	A	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
	C	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,167	0,833	0,000	0,243	0,757	0,000	0,000
	D	1,000	0,000	1,000	0,000	0,044	0,956	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000
Esperança	A	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,152	0,848	0,000	0,000
	C	0,000	0,194	0,806	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
ROCK		0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

As esterases são bastante apropriadas para a caracterização da estrutura populacional, pois são enzimas com grande variabilidade entre os insetos e outros organismos (MARTINS E CONTEL, 2001), inclusive já foi registrado um número variável de esterases em insetos por meio de eletroforese em géis de poliácridamida. Gigliolli (2008), ao estudar besouros da espécie *Tribolium castaneum*, identificou 19 bandas esterásicas, atribuídas a 11 locos gênicos. Guirado e Bicudo (2008), ao analisar o padrão de esterases em populações resistentes e suscetíveis de *Aedes aegypti*, observaram 24 bandas associadas a oito locos. Em 10 espécies do grupo *saltans* (Díptera: Drosophilidae), 51 bandas esterásicas foram detectadas (BERNARDO, 2007).

Além da identificação das bandas esterásicas e de locos gênicos, a análise de marcadores isoenzimáticos oferece dados importantes a respeito das populações estudadas. Os índices de diversidade genética: proporção de locos polimórficos (P) e heterozigidade média revelaram diferenças e similaridades entre populações de uma mesma espécie (TABELA 3).

Tabela 3: Resumo da variação genética observada nas amostras populacionais de *Aedes aegypti*.

Populações	Total de locos	Intensidade dos locos			Proporção de locos Polimórficos	Heterozigosi- dade média
		Fraca	Média	Forte		
<b>AGA</b>	4		1	3	16,67%	0,1244
<b>AGB</b>	4		2	2	16,67%	0,1188
<b>AGC</b>	2		1	1	0,00%	0,0000
<b>AGD</b>	6		3	3	50,00%	0,1521
<b>ANA</b>	3	1		2	0,00%	0,0000
<b>ANB</b>	2		1	1	0,00%	0,0000
<b>ANC</b>	2	1		1	16,67%	0,0988
<b>AND</b>	5	2	2	1	16,67%	0,0459
<b>SRA</b>	3	1		2	33,33%	0,3369
<b>SRB</b>	4	2		2	33,33%	0,1841
<b>SRC</b>	3	1	1	1	33,33%	0,2537
<b>SRD</b>	6		1	5	66,67%	0,2400
<b>CGA</b>	3	1		2	33,33%	0,3369
<b>CGB</b>	3		2	1	16,67%	0,1667
<b>CGC</b>	3	1	2		33,33%	0,2591
<b>LSA</b>	4	1	1	2	0,00%	0,0000
<b>LSC</b>	3		1	2	33,33%	0,2152
<b>LSD</b>	5	1	3	1	16,67%	0,0169
<b>ESPA</b>	3	1	2		16,67%	0,0857
<b>ESPC</b>	2	1	1		16,67%	0,1566
<b>ROCK</b>	1		1		0,00%	0,0000

A maior variabilidade genética foi observada para as amostras de *A.aegypti* do ponto D dos municípios de Serra Redonda e Alagoa Grande, pois correspondem às localidades com maior proporção de locos polimórficos, 66,67% e 50% respectivamente. E entre os municípios, a maior variabilidade foi em Serra Redonda. De acordo com Teixeira et al. (2004), essa variabilidade genética pode estar ligada a diversidade ambiental.

Já a heterozigosi-  
dade média foi maior no ponto A de Serra Redonda e Campina Grande, 0,3369. Sendo a heterozigosi-  
dade média de todas as outras localidades inferiores a observada por Paiva (2006), que avaliou o polimorfismo do gene de esterase em dez populações de Recife (PE). O autor observou valores de

heterozigosidade média que variaram de 0,278 a 0,533 em 2004 e, em 2005, de 0,388 a 0,608.

Os padrões dos locos de esterase detectados na população de Alagoa Grande (ponto C), Alagoa Nova (pontos A e B) e Lagoa Seca (ponto A) revelaram monomorfismo em todos os locos. A maior parte das populações estudadas apresentou 16,67% de locos polimórficos.

Para analisarmos se as frequências gênicas e genotípicas permanecem constantes ao longo das gerações, foi testado o equilíbrio de Hardy-Weinberg para todas as populações separadamente.

Neste estudo, podemos perceber que dez, das vinte populações, não estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, isto é, elas estão sofrendo algum tipo de variação na sua composição genética, que pode ser causada por vários fatores, dentre eles podemos citar a presença de migração, mutação, deriva genética ou seleção devido o uso inadequado de inseticidas (FRANKHAM, 2008).

Os valores de heterozigosidade observada ( $H_o$ ) variaram de 0 a 36 (TABELA 4).

Tabela 4: Estimativa de diversidade genética em populações de *Aedes aegypti* coletadas na mesorregião do agreste paraibano.

Populações	N	Loco	A	Ho	He	$\chi^2$	GL	Probabilidade
ANC	36	2	22	28	28,444	0,563	1	ns
			23	8	7,111			
			33	0	0,444			
AND	34	5	22	25	25,596	0,791	1	ns
			23	9	7,809			
			33	0	0,596			
AGA	30	5	22	2	8,533	22,969	1	P < 0,001
			23	28	14,933			
			33	0	6,533			
AGB	27	6	11	8	10,083	2,846	1	ns
			12	17	12,833			
			22	2	4,083			
AGD	34	3	11	20	19,882	0,013	1	ns
			12	12	12,235			
			22	2	1,882			
		4	11	1	0,029	34,000	1	P < 0,001
			12	0	1,941			
			22	33	32,029			
6	11	3	9,818	22,917	1	P < 0,001		
	12	30	16,364					
	22	0	6,818					
LSC	36	4	11	6	1,000	36,000	1	P < 0,001
			12	0	10,000			
			22	30	25,000			
		5	22	0	2,064	3,601	1	ns
			23	17	12,871			
			33	18	20,064			
LSD	34	3	11	0	0,066	0,072	1	ns
			12	3	2,868			
			22	31	31,066			
SRA	35	2	11	9	9,257	4,285	3	ns
			12	2	3,600			
			22	0	0,350			
			13	16	13,886			
			23	5	2,700			
			33	3	5,207			
		6	11	13	15,341	3,528	1	ns
			12	19	14,318			
SRB	36	2	22	25	25,714	0,972	1	ns
			23	10	8,571			
			33	0	0,714			
		5	22	4	6,323	2,837	1	ns
			23	20	15,355			
			33	7	9,323			
SRC	36	2	11	0	6,674	20,760	3	P < 0,001
			12	26	15,069			
			22	4	8,507			
			13	5	2,583			
			23	1	2,917			
			33	0	0,250			
SRC	36	5	22	0	0,371	0,465	1	ns
			23	7	6,258			

			33	26	26,371					
<b>SRD</b>	35	2	11	1	0,063	15,312	1	P < 0,001		
			12	1	2,875					
			22	34	33,063					
		3	11	0	1,960	3,781	1	ns		
			12	14	10,080					
			22	11	12,960					
		5	22	7	9,240	3,331	1	ns		
			23	17	12,519					
			33	2	4,240					
		6	11	9	13,444	9,715	1	P < 0,01		
			12	26	17,111					
			22	1	5,444					
<b>CGA</b>	36	2	22	10	14,694	11,505	1	P < 0,001		
			23	26	16,611					
			33	0	4,694					
	36	5	11	0	0,281	4,951	3	ns		
			12	6	3,469					
			22	10	10,695					
			13	0	1,969					
			23	11	12,141					
			33	5	3,445					
	<b>CGB</b>	36	5	22	0	9,000	36,000	1	P < 0,001	
				23	36	18,000				
				33	0	9,000				
<b>CGC</b>	18	2	11	15	15,125	0,149	1	ns		
			12	3	2,750					
			22	0	0,125					
		5	11	0	2,400	10,385	3	P < 0,05		
			12	2	2,000					
			22	0	0,417					
			13	10	5,200					
			23	3	2,167					
			33	0	2,817					
		<b>ESPA</b>	33	5	22	0	0,758	1,052	1	ns
					23	10	8,485			
					33	23	23,758			
<b>ESPC</b>	36	2	11	0	1,361	2,098	1	ns		
			12	14	11,278					
			22	22	23,361					

Legenda: N – número de larvas analisadas; A – alelos; Ho – heterozigidade observada; He – heterozigidade esperada;  $\chi^2$  – qui-quadrado; GL: grau de liberdade; Ns: não significativo.

Os níveis de diferenciação genética das populações ( $F_{st}$ ) foram calculados aos pares com base na frequência e variaram de 0 a 1 (TABELA 5), os quais estão bem acima dos valores descritos por Paiva (2006) nos anos de 2004 ( $F_{st} = 0,0385$ ) e 2005 ( $F_{st} = 0,0405$ ). Quando o valor de  $F_{st}$  é igual a um, a população está estruturada e provavelmente não ocorre fluxo gênico. Nesta pesquisa, poucas populações apresentaram níveis de diferenciação próximos a um, isto quer dizer que na maioria dos casos a população não está estruturada.



Tabela 5: Níveis de diferenciação genética ( $F_{st}$ ) das populações de *Aedes aegypti*. P: população.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20	P21		
P1	0,00																					P1	
P2		0,00																					P2
P3			0,00																				P3
P4				0,00																			P4
P5					0,00																		P5
P6						0,00																	P6
P7							0,00																P7
P8								0,00															P8
P9									0,00														P9
P10										0,00													P10
P11											0,00												P11
P12												0,00											P12
P13													0,00										P13
P14														0,00									P14
P15															0,00								P15
P16																0,00							P16
P17																	0,00						P17
P18																		0,00					P18
P19																			0,00				P19
P20																				0,00			P20
P21																						0,00	P21

Uma matriz binária para presença (1) ou ausência (2) de locos foi gerada a partir dos dados. A partir desta matriz foi possível construir um dendograma (Figura 12) para estimar a divergência para as populações estudadas.

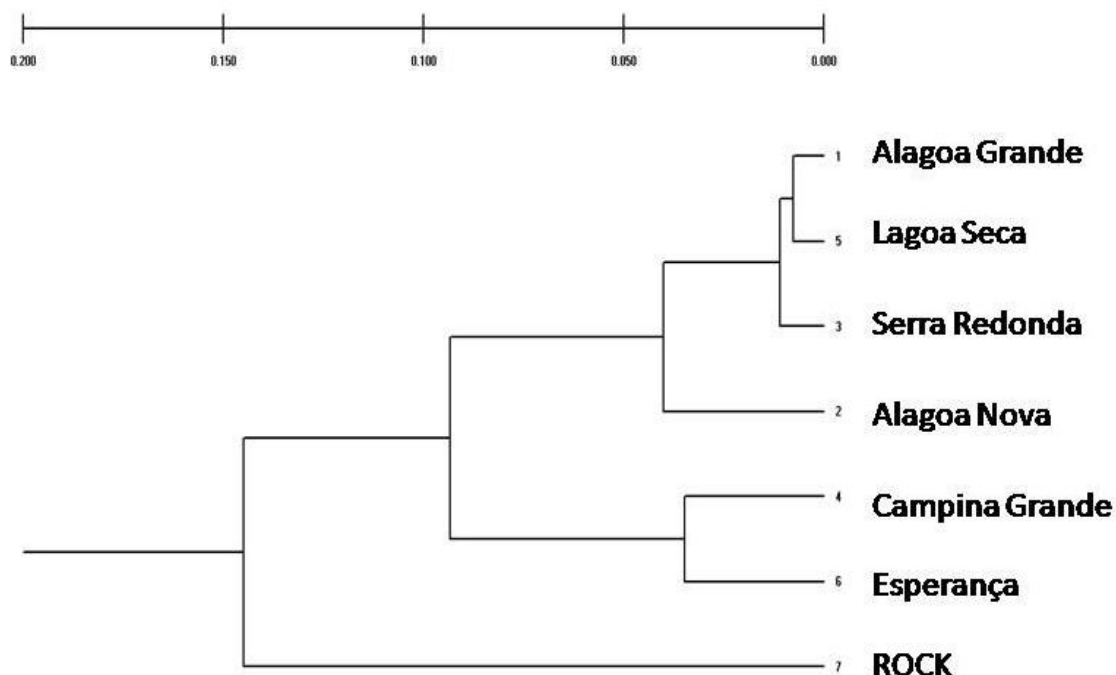


Figura 12: Dendrograma revelando a análise de agrupamento entre populações de *A. aegypti* provenientes da Paraíba, baseado na presença e ausência de locos de esterases, pelo método UPGMA.

No dendrograma pode-se observar cinco grupos distintos. A população de Alagoa Grande e Lagoa Seca são as únicas que possuem um ponto de coleta em que todos os locos foram monomórficos. A porcentagem de locos polimórficos também foi semelhante, 20% e 16%, respectivamente.

A população de Serra Redonda ficou isolada por ter a maior quantidade de locos polimórficos, 41%. Sua proximidade com o grupo das populações 1 e 5, deve-se ao fato de que as populações de Serra Redonda e Alagoa Grande serem as únicas que possuem em um ponto de coleta seis locos: Est-1, Est-2, Est-3, Est-4, Est-5, Est-6.

Alagoa Nova formou um terceiro grupo e é a única que possui dois locos monomórficos. Já as populações de Campina Grande e Esperança são semelhantes devido à presença da mesma sequência dos locos Est-2, Est-4 e Est-5. Apenas o ponto C de Esperança não possui esse último loco.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram diferentes frequências do gene esterase nas populações de *A. aegypti*, que de acordo com Siquieroli (2004) as diferenças de atividade nos locos de esterase podem resultar de diferenças de altitude, longitude, bem como nos métodos de controle químico. Esse fato sugere

que um estudo mais aprofundado do polimorfismo do gene esterase pode auxiliar na caracterização de populações do estado da Paraíba consideradas resistentes e susceptíveis.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há um alto índice de distribuição na atividade do *Aedes aegypti* dentro dos seis municípios estudados.

A técnica de isoenzimas em gel de poliacrilamida pode ser utilizada para detectar diferentes frequências dos alelos de esterase em *A. aegypti*.

As diferenças alélicas podem estar relacionadas com fatores ambientais ou ao uso de inseticidas.

## 7 REFERÊNCIAS

ALFENAS, A. C. et al. **Eletróforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 242 p.

ARAUJO, J. R.; FERREIRA, E. F.; ABREU, M. H. N. G.; Revisão sistemática sobre estudos de espacialização da dengue no Brasil. **Revista Brasileira Epidemiologia**, 11(4): 696-708, 2008.

AUGUSTIN, Eliane; LOECK, Alci E. ; STORCH, Gustavo; GRÜTZMACHER, Douglas D.; AFONSO, Ana Paula S.; GUSMÃO, Luciana G. Identificação de formigas cortadeiras do gênero *Acromyrmex* Hymenoptera: Formicidae através de isoenzimas. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 5, n. 2, 217-220, set-dez, 1999.

BARATA, E. AM. F.; COSTA, A. E. P.; CHIARAVALLI NETO, F.; GLASSER, C. M.; BARATA, J. M.; NATAL, D. População de *Aedes aegypti* (L.) em área endêmica de dengue, Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 35, P. 232-42. 2001.

BARBOSA, G. L.; LOURENÇO, R. W.; Análise da distribuição espaço-temporal de dengue e da infestação larvária no município de Tupã, Estado de São Paulo. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 43(2):145-151, mar-abr, 2010.

BARCELLOS, C.; PUSTAI, A. K.; WEBER, M. A.; BRITO, M. R. V.; Identificação de locais com potencial de transmissão de dengue em Porto Alegre através de técnicas de geoprocessamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 38(3):246-250, mai-jun, 2005.

BARRETO, P. D.; QUINDERÉ, M. A. W.; Resistência de genótipos de caupi ao caruncho. **Pesq. Agropéc. Bras.** v. 35, n.4, 2000.

BESERRA, E. B. et al. Biologia e exigências térmicas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) provenientes de quatro regiões bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, v. 35: 853-860. 2006.

BESERRA, E. B. et al. Resistência de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**, v, 36, n. 2. p. 303-307, 2007.

BESERRA, E. B. CASTRO-JÚNIOR, F. P. *Biologia Comparada de Populações de Aedes (Stegomyia) aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) da Paraíba. Neotropical Entomology*, v. 37, p. 081-085, 2008.

BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; FREITAS, E. M.; SANTOS, K. D.; Efeito da qualidade da água no ciclo de vida e na atração para oviposição de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**. 39(6):1016-1023, 2010.

BERNARDO, A. A. **Caracterização do padrão de esterases de espécies de *Drosophila* do grupo *saltans* (Subgênero *Sophophora*) e sua aplicação ao estudo da filogenia e à identificação de espécies**. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas-Universidade Estadual Paulista, campus de São José do Rio Preto-SP, 2007.

BISSET, J. A.; RODRÍGUEZ, M. ;ARMAS, Y. Comparación de 2 poblaciones de mosquitos *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba con diferente conducta de reposo. **Revista Cubana Medicina Tropical**, V. 57(2): P. 143-150. 2005.

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D; OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; ZIMMER, P. D.; KOPP, M. M.; BANDEIRA, J. M.; MAGALHÃES, T. R. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**.v. 33, n. 6, pp. 709-716. 2004.

BUENO, C. E. M. da S; OTOBONI, C. E. M; SANTOS, J. M. dos; CIVIDANES, F. J. Fenótipos de a-esterase em indivíduos de *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) de uma população do município de Garça - SP. **Revista Científica Eletrônica Agronomia**, N. 4, dez. 2003.

CANTAGALLI, L. B.; MANGOLIN, C. A.; RUVULO-TAKASUSUKI, M. C. C.; Isoenzymatic polymorphism in the leaf-cutting ant *Atta Capiguara Gonçalves* (hymenoptera: formicidae). **Neotropical Entomology**, v.39, n. 1. 2010

CAPRA, A.; LIMA, J. W. O.; MARINHO, A. C. P.; CALVASINA, P. G.; LANDIM, L. P.; SOMMERFELD, J.; Irregular water supply, household usage and dengue: a bio-social study in the Brazilian Northeast. **Caderno de Saúde Pública**, v.25, n 1, p. s125-S136, 2009.

CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C.; Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública**, v. 38(5), p. 623-9, 2004.

COSTA-RIBEIRO, M. C. V. **Variabilidade Genética de *Aedes aegypti* no Brasil**. 2006. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2006.

COSTA, A. I. P.; NATAL, D.; Distribuição espacial da dengue e determinantes socioeconômicos em localidade urbana no Sudeste do Brasil. **Revista de saúde pública**, v. 32, n 3, p. 232-6, 1998.  
DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. M.; Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n. 3, 2002.

FERREIRA, A. C.; CHIARAVALLI NETO, F.; Infestação de área urbana por *Aedes aegypti* e relação com níveis socioeconômicos. **Revista de Saúde Pública**;41(6):915-22, 2007.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: Edusp, 2002. 860 p.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A.; **Fundamentos de Genética da Conservação**. São Paulo, SBG, 2008. 280 p.

GIGLIOLLI, A. A. S.; **Identificação e caracterização bioquímica das esterases em *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) e a relação com a resistência aos inseticidas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Biologia celular e molecular) – Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá, PR, 2008.

GLASSER, M. C.; GOMES, A. C.; Clima e sobreposição da distribuição de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* na infestação do Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**,36(2):166-72, 2002.

GOMES, A. C.; SOUZA, J. M. P.; BERGAMASHI, D. P.; SANTOS, J. L. F.; ANDRADE, V. R.; LEITE, O. F.; RANEL, O.; SOUZA, S. S. L.; GUIMARÃES, N. S. N.; LIMA, V. L. C; Atividade antropofílica de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em área sob controle e vigilância. **Revista de Saúde Pública**, n. 39(2), p. 206-10, 2005.

GOMES JÚNIOR, P. P.; **Variação Genética em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus***. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE. Recife, PE, 2005.

GUIRADO, M.M; BICUDO, H. E. M. C; Padrão de esterases em populações do mosquito *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae), resistentes e suscetíveis a inseticidas

utilizados no controle, In: 54º Congresso Brasileiro de Genética. 2008. Salvador, BA, Brasil. Resumo.

HIRAGI, C.; SIMÕES, K.; MARTINS, E.; QUEIROZ, P.; LIMA, L.; MONNERAT, R.; Variabilidade genética em populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) utilizando marcadores de RAPD. **Neotropical Entomology**, 38(4):542-547, 2009.

HODGKINSON, V. H; BIRUNGI, J.; HAGHPANAH, M.; JOSHI, S.; MUNSTERMANN, L. E. Rapid Identification of Mitochondrial Cytochrome B Haplotypes by Single Strand Conformation Polymorphism in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) Populations. **Journal of Medical Entomology**. v. 39, n.4, p. 689-694. 2002.

HONÓRIO, N. A.; CASTRO, M. G.; BARROS, F. S. M.; MAGALHÃES, M. A. F. M.; SABROZA, P. C.; The spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a transition zone, Rio de Janeiro, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 25(6):1203-1214, jun, 2009

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Sinopse do censo demográfico 2010, Paraíba**. Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=25&dados=0>>. Acesso em: 20 out. 2011.

LEANDRO, D. C.; RIBERIO, A. L. M.; RODRIGUES, J. S. V.; ALBUQUERQUE, C. M. R.; ACEL, A. M.; SANTOS, F. A. L.; LEITE JÚNIOR, D. P.; MIYAZAKI, R. D.; Temporal distribution of *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae), in a Hospital in Cuiabá, State of Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, 54(4): 701–706, dezembro 2010.

LIMA JÚNIOR, R. S. **Estimativas de Variação Genética do Gene ND4 do DNA Mitocondrial em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) da Amazônia, Brasil**. 2007. 79 f. Dissertação (Mestrado em genética, conservação e biologia evolutiva) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Manaus – AM, 2007.

MARÇAL JUNIOR., O.; SANTOS, A. dos. Infestação por *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) e incidência do dengue no espaço urbano: um estudo de caso. **Caminhos de Geografia**, v. 15, n. 13, p. 241-251, 2004.

MARTINS, V. E. P.; ALENCAR, C. H. M.; FACÓ, P. E. G.; DUTRA, R. F.; ALVES, C. R.; PONTES, R. J. S.; GUEDES, M. I. F.; Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 43(1):73-77, 2010.



MARTINS, E.; CONTEL, E. P. B.; Africandungbeetle *Onthophagus gazella* Fabricius (COLEOPTERA: SCARABAEIDAE) esterase isozymes. **Braz. J. Biol.**, 61(4): 645-650, 2001.

MILLER, M. P. Tools for populations genetic analyses (TFPGA) 1.3. A windows program for analysis of allozyme and molecular populations genetic data. Computer software distributed by authors. 1997.

MITCHELL-OLDS, T. The Molecular basis of quantitative genetic variation in natural populations. **Tree**, v. 10, n. 8, p. 324-328, 1995.

MONNERAT, R.; BERTIOLI, S. L.; BERTIOLI, D.; BUTT, T.; BORDAT, D.; Variabilidade genética de *Diadegma* sp., parasitóide da traça-das crucíferas, através de RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p.90-92, 2004.

NATAL, D.; Bioecologia do *Aedes aegypti*. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.205-207, jul./dez., 2002

OOSTERHOUT, C. V.; HEUVEN, M. K. V.; BRAKEFIELD, P. M. On the neutrality of molecular genetic markers: pedigree analysis of genetic variations in fragmented populations. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 1025- 1034, 2004.

PAIVA, M. H. S. **Monitoramento do gene, que codifica a esterase, envolvido na resistência a inseticidas organofosforados em populações naturais de *Aedes aegypti* do Brasil.** Dissertação (mestrado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz/ Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Recife, PE, 2006.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlex 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. The Australian National University, Canberra, Australia. 2006.

PADUAN, K. S.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; RIBOLLA, P. E. M.; Genetic variability in geographical populations of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) in Brazil elucidated by molecular markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 391-395, 2006.

PADUAN, K. S.; RIBOLLA, P. E. M. Mitochondrial DNA Polymorphism and Heteroplasmy in Populations of *Aedes aegypti* in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 1, p. 59-67(9), 2008.

PINTO, L. R.; VIEIRA, M. L. C.; SOUZA, A. P.; SOUZA JUNIOR, C. L.; Isoenzimas e microssatélites em plantas. **Biociência**, n 20 - maio/junho, 2001.

POWELL, J. R.; TABACHINICK, W. J.; ARNOLD, J. Genetics and the origin of a vector population: *Aedes aegypti*, a case study. **Science**, n. 208, p. 1385-1387, 1980.

QUEIROZ, P. R.; MARTINAS, E. S.; MONNERAT, R. G.; LIMA, L. H. C.; Análise da variabilidade genética de uma população de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) por meio de marcadores moleculares RAPD. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1676-1340, 75, 2004.

RAMPELOTTI, F. T.; FERREIRA, A.; TCACENCO, F. A.; MARTINS, J. F. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; PRANDO, H. F. Diversidade Genética de *Tibracalimbativentris* Stål (Hemiptera: Pentatomidae) de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul, Usando Marcadores RAPD. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 1, p. 020-029. 2008.

RAVEL, S.; MONTEL, N.; OLMOS, DV; VERDUGO, JE; CUNY. A preliminary study of the population genetics of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico using microsatellite and AFLP markers. **Acta tropical**, 79, p. 241-250, 2001.

REBÊLO, J. M. M; COSTA, J. M. L; SILVA, F. S; PEREIRA, Y. N. O; SILVA, J. M. Distribuição de *Aedes aegypti* e do dengue no estado do Maranhão, Brasil. **Caderno de saúde pública**, v. 15, n. 3, p. 477-486, 1999.

RIBEIRO, M. C. V. C.; Variabilidade genética de *Aedes (Stegomyia) aegypti* no Brasil. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular). Fundação Oswaldo Cruz, IOC. Rio de Janeiro, 2006.

SANTOS, R. S.; CARVALHO, M. S.; Análise da distribuição espacial de larvas de *Aedes aegypti* na Ilha do Governador, Rio de Janeiro, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 31-42, 2000.

SILVA, L. D.; OMOTO, C.; BLEICHER, E.; DOURADO, P. M.; Monitoramento da Suscetibilidade a Inseticidas em Populações de *Bemisia tabaci* (*Gennadius*) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil. **Neotropical Entomology**. v. 38, n.1, 2009.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; SANTOS, R. M. G.; RODRIGUES FILHO, E.; ELIAS, C. N.; Atividade larvicida de taninos isolados de *Magoniapubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37(5), p. 396-399, 2004.

SIQUIEROLI, A. C. S.; BAFFI, M. A.; VIEIRA, C. U.; CÔBO, J. A.; BORGES, J. L.; LUCAS, M. B.; BONETTI, A. M.; Atividade esterásica em populações de *Leucoptera coffeella*. **Arq.Inst.Biol.**, São Paulo, v.71, (supl.), 1-749, 2004.

SOSA-GOMEZ, D. R.; DELPIN, K. E.; ALVARO M. R; ALMEIDA AND HIROSE, E. Genetic Differentiation among Brazilian Populations of *Euschistus heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae) Based on RAPD Analysis. **Neotropical Entomology**. v. 33, n. 2, p. 179-187. 2004.

TABACHNICK, W. J.; POWELL, J. R. A world-wide survey of genetic variation in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. **Genetic Researcher**, v. 34, p. 215-229, 1979.

TEIXEIRA, A. S.; CHAVES, L. S.; YUYAMA, K.; Esterases no exame da estrutura populacional de Camucamu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh Myrtaceae). **Acta Amazônica**, Vol 34(1), p. 89 – 96, 2004.

WALLIS, G. P; TABACHNICK, W. J. Genetic analysis of rock hole and domestic *Aedes aegypti* on Caribbean of Anguila. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 6(4), p. 625-630. 1990.

WALLIS, G. P.; TABACHNICK, W. J.; Macrogeographic genetic variation in a human commensal: *Aedes aegypti* the yellow fever mosquito. **Genetical Research**, 41: 241-258. 1983.