



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA – CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

BÁRBARA NATIELI SILVA PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE
POPULAÇÕES NATURAIS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (DIPTERA:
CULICIDAE) EM DOIS BAIROS DO MUNICÍPIO DE CAMPINA GRANDE,
PARAÍBA**

CAMPINA GRANDE – PB
2014

BÁRBARA NATIELI SILVA PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE
POPULAÇÕES NATURAIS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (DIPTERA:
CULICIDAE) EM DOIS BAIROS DO MUNICÍPIO DE CAMPINA GRANDE,
PARAÍBA**

Trabalho de conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento as exigências para obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. MSc. Walter Fabrício Silva Martins

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

P436c Pereira, Bárbara Natieli Silva

Caracterização espaço-temporal da variabilidade genética de populações naturais de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) em dois bairros do município de Campina Grande [manuscrito] / Barbara Natieli Silva Pereira. - 2014.

54 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2014.

"Orientação: Prof. Me. Walter Fabrício Silva Martins, Departamento de Ciências Biológicas".

1. Dengue. 2. Insetos vetores. 3. Sazonalidade. 4. Genética de populações. I. Título.

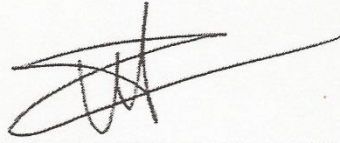
21. ed. CDD 576.58

BÁRBARA NATIELI SILVA PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE
POPULAÇÕES NATURAIS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (DIPTERA:
CULICIDAE) EM DOIS BAIRROS DO MUNICÍPIO DE CAMPINA GRANDE,
PARAÍBA**

Trabalho de Conclusão de Curso analisado e aprovado pela banca examinadora em
21 de fevereiro de 2014.

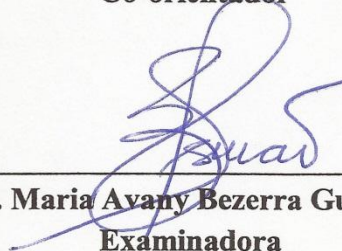
BANCA EXAMINADORA



Prof. MSc. Walter Fabrício Silva Martins – UEPB
Orientador



Prof. Dr. Eduardo Barbosa Beserra – UEPB
Co-orientador



Profa. Dra. Maria Avany Bezerra Gusmão – UEPB
Examinadora



Prof. Dr. Mathias Weller - UEPB
Examinador

Dedico este trabalho ao meu orientador, **Walter Martins**, pela dedicação, amizade e confiança. Este trabalho não é meu, é nosso!

Por tudo que sou a **minha família** e a **Deus**, o meu tudo!

AGRADECIMENTOS

Ao fechar deste ciclo, durante o qual conheci pessoas especiais às quais pude compartilhar de diversos momentos adquirindo grande aprendizado e amigos para toda vida, escrevo algumas poucas palavras como forma de agradecimento, mesmo sabendo que elas jamais serão suficientes para expressar tal sentimento.

O primeiro e justíssimo agradecimento é ao meu orientador, Walter Fabricio Silva Martins, pela dedicação e enorme paciência. Pois durante mais de dois anos de agradabilíssima convivência, mesmo distante se fez presente recebendo quase que diariamente meus e-mails e ajudando em todas as situações. Sem sua amizade e confiança esse trabalho jamais seria realizado, sou eternamente grata por todo ensinamento, apoio e todas as palavras de força que sempre me destes e que muito me motivam a perseguir os meus sonhos, muitíssimo obrigada, você é a pessoa mais importante na realização dessa conquista. És meu grande exemplo. #MelhorOrientadorViaSatéliteDoMundo

A Universidade Estadual da Paraíba, por todo aprendizado adquirido, além do apoio técnico e financeiro para realização deste trabalho e concessão das bolsas do PIBIC CNPq e Propesq.

Ao professor Dr. Mathias Weller, por todo apoio, cada palavra de incentivo, de preocupação, pelos gestos de amizade demonstrados ao longo dessa caminhada e que certamente irão perdurar por todos os meus dias. Foi uma honra tê-lo como professor, tenha a certeza que aprendi muito contigo. Vielen Dank!

A professora Dra. Avany Gusmão, a grande responsável pelo início da minha caminhada nos trilhos da genética, meu muitíssimo obrigada!

Ao meu co-orientador, professor Dr. Eduardo Beserra, pela acolhida em seu laboratório e toda ajuda na realização deste trabalho.

A professora Dra. Simone Lopes e graduanda Larissa Germana pela ajuda nos meus primeiros passos nesta agradável caminhada.

A Augusto, Climelia, Patrícia Rocha e Silvana, técnicos de laboratórios da UEPB aos quais contribuíram com seus trabalhos de forma sempre gentil para o andamento deste.

A Rafael Aguiar, amigo de trabalho que reencontrei no laboratório e que muito me ajudou participando de todas as minhas cansativas coletas, sempre com boa vontade e sorriso no rosto. Sem você e sua moto, não sei o que seria de mim (risos).

Ao professor Dr. André Pessanha, por todo aprendizado, por cada palavra amiga e, sobretudo pela preocupação. Obrigada por tudo! Meu carinho por ti é sem tamanho.

A equipe que alegra o laboratório de entomologia, Renata Leandro, Noiana de Paula, Sandrinha Dias e Valbia Porto por todos os momentos de descontração e por compartilharem de tantos episódios deste trabalho que sem duvidas poderia se tornar um livro.

Aos meus amigos Daniela Regis, Gleydson Nery, Mayara Farias e Thayná de Sena aos quais compartilho inúmeros momentos, seja na universidade com todos os causos da genética, seja fora. Vocês são demais! Obrigada por todo carinho e por fazerem parte do meu dia a dia.

A minha querida turma de Ciências Biológicas 2009.2, noturna, por todos os momentos vivenciados, conhecimento compartilhado e polemicas gerada.

Aos “amigos secretos” não apenas do curso, mas de toda vida, por alegrarem os meus dias e por todo apoio, Antônio Limeira, Gabriella Brandão, Izabelly Ananias, Vanessa Mello e Tercio José, a amizade de vocês é um dos meus maiores bens.

E claro, aos amigos Ahyanna Monteverde, Cássio Cunha Lima, Herla Hanny, John Erick, Mayara Zeca, Priscilla Mello e Saula Silva que compartilham comigo de tantos momentos, vibram desde o início por cada conquista e que acompanharam muitas etapas dessa bela caminhada e que certamente estarão presente nas próximas. Vocês são show! Tê-los ao meu lado é muito bom.

E por último e não mesmo importante, aos meus pais, Andrea Silva e Flavio Pereira, aos meus irmãos, Arthur, Bianca e Brenda, minha amada e querida vó, Corina Simão, a qual me apresentou a UEPB e sempre me mostrou a importância de seguir o caminho acadêmico e os meus tios que não citarei nomes para não pecar por omissão.

...este trabalho tem um pedacinho de cada um de vocês,

OBRIGADA!

“Eu não tenho muitas respostas. O que eu tenho é fé e uma vontade bonita, toda minha, de crescer.”
Ana Jácomo

RESUMO

Aedes aegypti, é o principal vetor da dengue, atualmente, a mais importante arbovirose nas regiões tropicais e subtropicais. Por não existir vacina para prevenção desta doença, o controle do mosquito constitui a principal intervenção para reduzir a transmissão do vírus. Entre as estratégias utilizadas para o controle das populações do *A. aegypti* o uso de inseticidas químicos, controle biológico e eliminação de criadouros são os métodos amplamente utilizados. No entanto, estes métodos não levam em consideração fatores ecológicos, climáticos e genéticos. A compreensão dos padrões genéticos e da distribuição espacial deste vetor é importante para rastrear e prevenir a dispersão de genes, envolvidos na resistência a inseticidas e diferença da capacidade vetorial. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a influência da variação sazonal sobre a estrutura genética e dispersão em microescala de populações naturais de *A. aegypti* oriundas de dois bairros do município de Campina Grande através de três marcadores de microssatélites. Para cada ponto de coleta também foi realizado inquérito entomológico e aquisição de dados meteorológicos, para caracterizar a influência de fatores climáticos sobre a estrutura e diversidade genética das populações. Os resultados obtidos através da análise entomológica evidenciaram um aumento de 68,77% na oviposição no período chuvoso e maior presença de machos em ambos os períodos com número de fêmeas mantendo-se constante. A análise de diversidade genética revelou a presença de 8 alelos no período seco e 10 no período chuvoso. O maior e menor valor de heterozigosidade observada (H_O) foi obtido no bairro do José Pinheiro, respectivamente, no período seco ($H_O = 0,307$) e no período chuvoso ($H_O = 0,238$). Para a heterozigosidade esperada (H_E) o maior valor foi no bairro do Catolé, no período chuvoso ($H_E = 0,476$) e o menor no bairro do José Pinheiro, período seco ($H_E = 0,367$). Os índices de fluxo gênico (Nm) foram superiores a 50 em ambos os períodos e as populações mostraram alto índice de similaridade genética $F_{ST} = 0,015$ no período seco e 0,019 no período chuvoso, as análises de coordenadas principais e bayesiana evidenciaram a presença de dois grupos, os quais não refletem a distribuição geográfica, contudo revelou um padrão de agrupamento associado aos efeitos climáticos, enquanto que a análise de variância de variância molecular (AMOVA) também revelou grande nível de diferenciação genética dentro das populações (76%). Podendo-se concluir que há necessidade de maior intervenção de controle deste vetor no período chuvoso, devido o elevado número de oviposição, causando aumento populacional e

consequentemente aumento na diversidade genética, a qual possibilita uma maior dispersão de locos associados com resistência e variação na competência vetorial das populações.

Palavras-chave: Dengue. Insetos vetores. Sazonalidade. Genética de populações, Marcadores microssatélites.

ABSTRACT

Aedes aegypti is the main vector of dengue fever, currently the most important arboviral disease in tropical and subtropical regions. Since there is no vaccine to prevent the disease, mosquito control is the major intervention to reduce virus transmission. Among the strategies applied to control *A. aegypti* populations the use of chemical insecticides, biological control and elimination of breeding sites methods are widely utilized. However, these methods do not take into concern ecological, climatic and genetic factors. Understanding the genetic patterns and spatial distribution of this vector is important to track and prevent the dispersion of genes involved in insecticide resistance and difference in vectorial capacity. Thus, the present study aims to evaluate the influence of seasonal variation on the genetic structure and dispersal at a micro-scale level in natural populations of *A. aegypti* collected in two neighborhoods of Campina Grande through three microsatellite markers. For each collection site was also conducted an entomological survey and collection of meteorological data to characterize the influence of climatic factors on the populations structure and genetic diversity. The results obtained through the entomological analysis showed an increase of 68,77 % on oviposition in the rainy season and higher presence of males in both periods uniform number of females. Genetic diversity analysis revealed the presence of eight alleles in the dry period and 10 alleles in the rainy season. The largest and smallest value of observed heterozygosity (H_O) was obtained in the neighborhood José Pinheiro, respectively, in the dry ($H_O = 0,307$) and in the rainy season ($H_O = 0,238$). For the expected heterozygosity (H_E), the highest was in the neighborhood Catolé ($H_E = 0,476$) and the lowest in the rainy period in José Pinheiro neighborhood in the dry period ($H_E = 0,367$). Rates of gene flow (Nm) were greater than 50 in both periods and populations showed high genetic similarity index $F_{ST} = 0,015$ in the dry season and 0,019 during the rainy season. The analysis of principal coordinates and bayesian showed the presence of two groups, which suggests that clustering is associated with weather effects. On the other hand, analysis of molecular variance (AMOVA) also decided high level of genetic differentiation within populations (76%). Can be concluded that there is need for greater control intervention of this vector in the rainy season, due to the large number of oviposition, causing population growth and consequent increase in genetic diversity, which enables greater dispersion between populations of loci associated with variation in the insecticide resistance and vector competence.

Keywords: Dengue. Insect vectors. Seasonality. Population genetics, Microsatellite markers.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Distribuição global dos países e áreas com risco de transmissão da dengue em 2011. 19
- Figura 2 - Mapa do Brasil, com destaque para a Região Nordeste e o Estado da Paraíba evidenciando o município de Campina Grande..... 25
- Figura 3 - Distribuição dos pontos de coleta nos bairros do Catolé (A) e José Pinheiro (B)... 26
- Figura 4 - Precipitação e temperaturas médias mínimas e máximas (°C) no município de Campina Grande no período de dezembro de 2011 a agosto de 2012. 31
- Figura 5 - Quantificação de ovos e número de fêmeas obtidos nos bairros do Catolé e José Pinheiro através das coletas de *Aedes aegypti* durante o período seco e o chuvoso. A - Quantidade de ovos. B – Quantidade de fêmeas. 31
- Figura 6 - Frequência alélica total dos locos microssatélites analisados em *Aedes aegypti* coletados no município de Campina Grande nos bairros do Catolé e José Pinheiro, nos períodos seco e chuvoso. 32
- Figura 7 - Frequência alélica dos locos de microssatélites analisados em populações de *Aedes aegypti* do município de Campina Grande, nos bairros do Catolé e José Pinheiro, por ponto de coleta. A: Populações do bairro do Catolé, período seco; B: Populações do bairro do Catolé, período chuvoso; C: Populações do bairro do José Pinheiro, período seco; D: Populações do bairro do José Pinheiro, período chuvoso..... 33
- Figura 8 - Percentagens de variância molecular entre as populações de *Aedes aegypti* do município de campina Grande, nos bairros do Catolé e José Pinheiro..... 36
- Figura 9 - Análise das coordenadas principais, mostrando o agrupamento das populações de *Aedes aegypti* dos bairros do Catolé e José Pinheiro, por ponto de coleta no período seco e chuvoso. 37

Figura 10 - Análise das coordenadas principais, mostrando o agrupamento dos indivíduos das populações de *Aedes aegypti* dos bairros do Catolé e José Pinheiro, no período seco e chuvoso.....37

Figura 11 - Análise bayesiana, mostrando a probabilidade de ancestralidade das populações de *Aedes aegypti* nos bairro do Catolé e do José pinheiro. A: Populações do bairro do Catolé no período seco; B: Populações do bairro do José Pinheiro no período seco; C: Populações do bairro do Catolé no período chuvoso; D: Populações do bairro do José Pinheiro no período chuvoso.....38

Figura 12 – Dendograma mostrando o agrupamento das populações de *Aedes aegypti* nos bairros do Catolé e José Pinheiro no período seco e chuvoso, através do índice de distância genética..... 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Georeferenciamento dos pontos de coleta de ovos de <i>Aedes aegypti</i> no município de Campina Grande, bairros do Catolé e José Pinheiro.	26
Tabela 2 - Sequência dos oligonucleotídeos e tamanho esperado dos <i>amplicons</i>	28
Tabela 3 - Número de ovos de <i>Aedes aegypti</i> coletados no município de Campina Grande nos bairros do Catolé e José Pinheiro por ponto de coleta e sexagem dos indivíduos na fase adulta	32
Tabela 4 - Índice de diversidade genética de populações de <i>Aedes aegypti</i> do município de Campina Grande, no bairros do Catolé e José Pinheiro, nos períodos seco e chuvoso obtidos através de três locos microssatélites.	34
Tabela 5 - Valores de diferenciação genética de acordo com as estatísticas F de Wright e fluxo gênico das populações de <i>Aedes aegypti</i> , do município de Campina Grande, bairros do Catolé e José Pinheiro, no período seco e chuvoso, levando-se em consideração os bairros estudados.	36
Tabela 6 - Análise de variância molecular (AMOVA) de regiões microssatélites de populações de <i>Aedes aegypti</i> do município de Campina Grande, nos bairros do Catolé e José Pinheiro nos períodos seco e chuvoso.	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
2.1	Doenças tropicais negligenciadas	17
2.2	Dengue	18
2.3	Varição espaço-temporal e estrutura genética do <i>Aedes aegypti</i>	20
2.4	Marcadores moleculares	22
3	OBJETIVOS	24
3.1	Objetivo geral	24
3.2	Objetivos específicos	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	Área de estudo e coleta de dados entomológicos e climatológicos	25
4.2	Análise de diversidade genética	27
4.2.1	Extração de DNA genômico e amplificação dos marcadores microssatélites	27
4.2.2	Genotipagem em gel de poliacrilamida desnaturante	28
4.3	Análise dos dados	28
5	RESULTADOS	30
5.1	Levantamento entomológico	30
5.2	Diversidade genética	32
5.3	Estrutura genética	35
6	DISCUSSÕES	40
7	CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
	REFERÊNCIAS	44
	APÊNDICES	51

1 INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas (DNTs) são transmitidas por vetores ou hospedeiros e afetam mais de um bilhão de pessoas, pondo em risco a saúde de milhares delas (WHO, 2010). Muitas dessas doenças são transmitidas por mosquitos e resultam em mais de dois milhões de mortes anuais mundialmente (COSTA-DA-SILVA et al., 2012). A dengue faz parte deste grupo sendo considerada a mais grave arbovirose que afeta o homem. Estima-se que 2,5 bilhões de pessoas residem em áreas de risco, sendo, anualmente, infectadas de 50 a 100 milhões de pessoas, distribuídas em mais de 100 países endêmicos. No ano de 2008 ocorreram 682 mil casos de dengue na América do Sul, com 585 registros no Brasil (WHO, 2009).

Aedes aegypti, responsável pela transmissão dos quatro sorotipos da dengue, é considerado o principal vetor urbano da dengue (GUBLER, 2002). No entanto, há relatos de surtos de dengue através do *A. albopictus*, *A. polynesiensis* e várias espécies de complexo do *A. scutellaris*, tornando estas espécies vetores secundários deste vírus (WHO, 2010).

Atualmente, não há vacina disponível para prevenção da doença, nem drogas antivirais que possam reduzir a viremia, tornando o combate ao mosquito a principal maneira de controle da dengue (TEIXEIRA et al., 2002). Algumas estratégias vêm sendo desenvolvidas no combate ao mosquito, destacando-se a aplicação de inseticidas, eliminação de criadouros e o controle biológico (YAKOB et al., 2008; WHO, 2009). No entanto estes métodos são pontuais e não resultam em um nível de prevenção amplo e de longo termo, tendo em vista que não são levados em consideração os fatores ecológicos, climáticos e genéticos.

De acordo com Paupy et al. (2005), fatores climáticos, ação humana, aplicação de inseticidas químicos e práticas inadequadas de armazenamento de água com formação de criadouros artificiais estão entre os aspectos envolvidos no processo de estruturação genética das populações de *A. aegypti*.

A caracterização da distribuição espacial da variabilidade genética das populações de *A. aegypti* é especialmente relevante para a compreensão da ecologia e evolução destes mosquitos. O conhecimento dos aspectos demográficos e genéticos envolvidos na ecologia destes insetos podem ajudar na compreensão da dinâmica populacional, especialmente no que se refere à ocorrência de fluxo gênico, migração, estrutura genética e padrões de extinção e recolonização em áreas endêmicas (SANTOS et al., 2003). Como também, o estudo da variabilidade genética das populações de vetores tem implicações importantes na

epidemiologia da dengue, pois esta variação pode causar diferenças na suscetibilidade relacionada à competência vetorial do vírus (HERRERA et al., 2006). Diversos estudos utilizando marcadores moleculares microssatélites estão sendo desenvolvidos a fim de detectar polimorfismo e compreender os padrões de dispersão deste vetor (RAVEL et al., 2002; COSTA-RIBEIRO et al., 2006; ENDERSBY et al., 2009). Portanto, os estudos com marcadores moleculares podem fornecer informações valiosas sobre a variação na estruturação genética entre e intrapopulacional, este estudo associado à variação sazonal é importante, pois pode revelar os fatores que contribuem para o surgimento destas mudanças, de forma que possam ser realizadas medidas preventivas deste vetor, levando em consideração aspectos climáticos, ecológicos e genéticos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Doenças tropicais negligenciadas

Dezessete doenças fazem parte do grupo das doenças tropicais negligenciadas (DNTs), cuja transmissão e persistência dos patógenos são ocasionadas através do intermédio de vetores ou hospedeiros (WHO, 2013). Dentre as quais, a dengue, doença de chagas, filariose linfática, as leishmanioses são doenças transmitidas por vetores e compreendem 16% do total da carga de doenças infecciosas (WHO, 2013).

Estas doenças permanecem como uma das principais causas de morbidade e mortalidade nas populações tropicais (BONDS et al., 2012). Elas não apenas acometem predominantemente as populações mais pobres e vulneráveis, como também contribuem para a perpetuação da desigualdade e exclusão social (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). No entanto, atualmente, doenças como a dengue, tripanossomíase e leishmaniose apresentam-se como uma emergente ameaça para os países desenvolvidos (RASCALOU et al., 2012).

A leishmaniose e a dengue estão entre as DTNs que mais afetam a população humana. Nos últimos 10 anos a leishmaniose, transmitida através de flebotomíneos popularmente conhecidos como mosquito-palha, obteve uma grande disseminação com estimativa de 1,3 milhões de casos anuais com cerca de 20.000 a 30.0000 mortes (WHO, 2013). A dengue, por sua vez, tornou-se um problema de saúde pública em diversos países do mundo, exceto no continente Europeu. As estimativas são que o vírus da dengue, transmitido principalmente através dos mosquitos *Aedes aegypti*, acomete anualmente entre 50 a 100 milhões de pessoas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Porém, algumas das DNTs se encontram em declínio, como exemplo a dracunculíase que por meio de iniciativas de saúde pública internacional com intervenções em áreas-alvo está alcançando a erradicação. Em 1989 foram relatados 892.055 casos em 20 países do mundo e em 2011 foram 1.058 casos notificados, representando uma redução de 99% dos casos. Este declínio continuou constante durante o ano de 2012, atingindo entre janeiro e setembro apenas 502 casos relatados no Sudão do Sul, 9 no Chade, 4 em Mali, e três em cada Etiópia e Níger (WHO, 2013).

No Brasil, são encontradas nove DTNs, a cisticercose, dengue, doença de chagas, equinococose, esquistossomose, leishmaniose, oncocercose, raiva e tracoma (WHO, 2010). A

crecente urbanização, alterações climáticas, concentração demográfica, mudança de paisagem, debilidade dos serviços de saúde pública, assim como também mutação de vírus e bactérias e a expansão na população de insetos vetores, proporcionaram o rápido crescimento destas doenças nas cidades, resultando na necessidade de estratégias no controle vetorial (MENDONÇA et al., 2009). Porém, atualmente, as estratégias utilizadas para o controle destes vetores são métodos tradicionais de atividades preventivas, como eliminação de criadores, controle biológico através de predadores de larvas e uso de inseticidas, tornando o controle ineficiente (TAUIL, 2001).

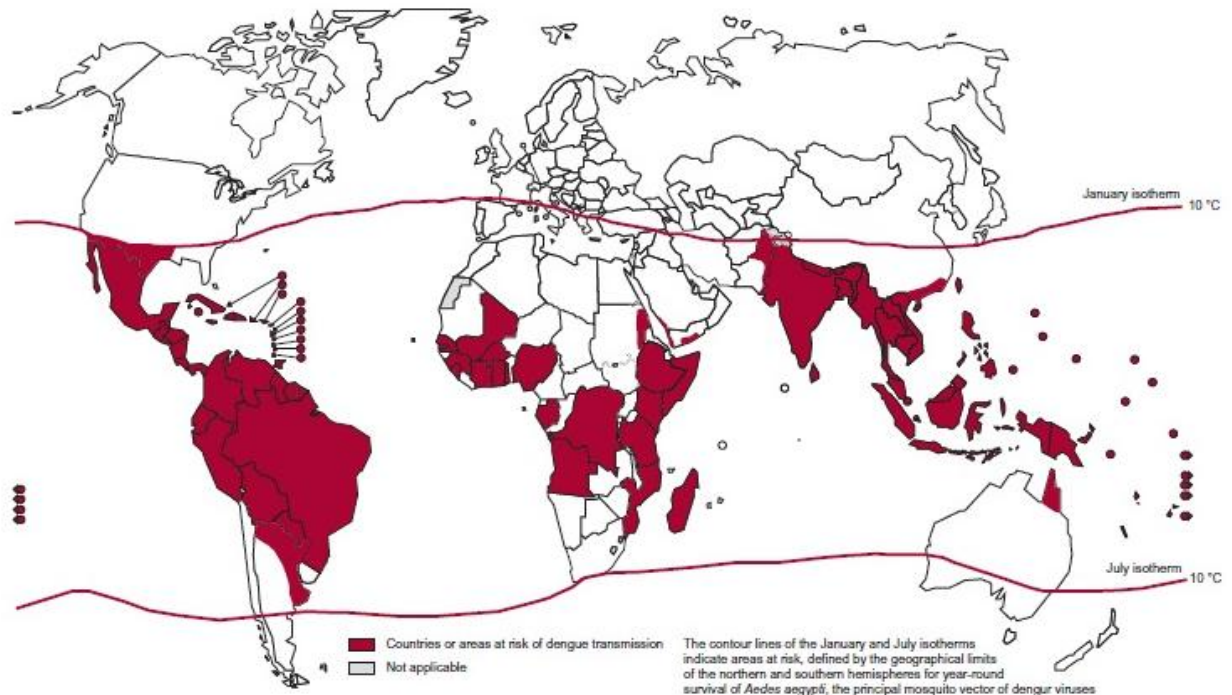
Para a realização de um método de controle dos vetores eficaz, deve-se levar em consideração aspectos referentes à ecologia, comportamento e susceptibilidade a inseticidas químicos (BERG et al., 2012). No entanto, a eficácia de qualquer controle depende da forma de como as populações de vetores irão responder ao método de intervenção aplicado. Por exemplo, as populações de mosquitos podem responder através da plasticidade fenotípica, ou por traços de evolução, como a resistência a inseticidas (FERGUSON et al., 2010).

2.2 Dengue

Aedes aegypti (LINNAEUS, 1762), o principal vetor da febre amarela e dengue, é uma espécie tropical e subtropical, encontrada em todo mundo, principalmente entre as latitudes 35°N e 35°S (Figura 1) (FUNASA, 2001). Os sorotipos da dengue são transmitidos através da fêmea durante o processo de hematofagia, uma vez que os machos se alimentam de frutas ou vegetais adocicados (SILVA; NOBREGA, 2012).

Segundo dados da WHO (2013), em 2012 a dengue foi classificada como a mais importante doença viral transmitida por mosquitos, obtendo potencial para tornar-se uma epidemia mundial. Durante os últimos 50 anos houve um aumento em sua incidência mundial de 30 vezes. Na América, atualmente estão em circulação os quatro sorotipos do vírus da dengue: DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4 (MARTIN et al., 2010).

Figura 1 - Distribuição global dos países e áreas com risco de transmissão da dengue em 2011.



Fonte: WHO 2013

A expansão da população deste mosquito pode estar associada a diversos fatores como as alterações climáticas, mudanças nas paisagens e nos ecossistemas, crescimento populacional, concentração demográfica, condições socioambientais e os métodos de controle utilizado devido à ocorrência de resistência (MENDONÇA et al., 2009).

A densidade populacional de mosquitos aumenta especialmente no início da estação chuvosa (HUBER et al., 2002). No entanto, a maior incidência de casos de dengue ocorre quando o clima é mais quente e úmido, no Brasil, entre os meses de janeiro a maio (BRAGA; VALLE, 2007; LOWE et al., 2011). Em experimentos laboratoriais, Besserra et al. (2006) observaram que as temperaturas ideais para o desenvolvimento e fecundidade do *A. Aegypti* encontram-se entre 26°C e 30°C, enquanto que temperaturas abaixo de 18°C acarretam maior longevidade das fêmeas, porém menor fecundidade. Esse fator parece atuar como modelador ou moderador de expansão dessa espécie, uma vez que quanto mais baixa a temperatura, mais lento o processo de desenvolvimento (GLASSER; GOMES, 2002).

O controle da dengue é um enorme desafio no Brasil e no mundo, tendo em vista que o combate ao *A. aegypti*, consiste em medidas contra as larvas e mosquitos adultos (TAUIL et al., 2006). O programa de estratégia global para a prevenção e controle da dengue busca reduzir a mortalidade por dengue em pelo menos 50% até o ano de 2020. A estratégia é composta por cinco elementos técnicos: diagnóstico e tratamento de casos; vigilância

integrada e resposta a surtos; controle de vetores sustentável; implementação da vacina e a pesquisa operacional e implementação básica (WHO, 2013).

No Brasil, o número de notificações de casos de dengue desde a década de 80 demonstra um aumento importante, principalmente nas regiões Nordeste e Sudeste, neste período houve três momentos mais expressivos, em 1998, com 528.388 casos, 2001 com 428.117 e 2002 com 794.219. A partir de 2003 ocorreu um declínio do número de casos com 346.118, e 2004 com 117.519 (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE/MS, 2005).

Na Paraíba, as notificações de caso de dengue sofreram elevação de 164,5% entre 2006 e 2007. No total, foram notificados 3.559 casos de dengue em 2006 e 9,485 em 2007. A infestação por *A. aegypti* acometeu 97,8% dos municípios com circulação do sorotipo DENV-3. Dados do Índice de Infestação Predial (IIP1) mostraram que os municípios de Campina Grande e Patos apresentaram risco de surto e o de João Pessoa se manteve em alerta (MINISTÉRIO DA SAÚDE). Dados de janeiro a março de 2013 revelam que o município de Campina Grande sofreu redução no número de notificações de casos de dengue, se tornando um município de baixo risco, no entanto João Pessoa sofreu elevação, e se encontra em alto risco. (SECRETARIA DE SAÚDE/PB, 2013).

2.3 Variação espaço-temporal e estrutura genética do *Aedes aegypti*

Diversos fatores estão relacionados com a dispersão de insetos. Fatores ambientais e sociais como o clima, densidade demográfica e a atividade econômica, contribuem na dinâmica das populações, por exemplo, a expansão geográfica das populações humanas, variação na competência vetorial e mudanças na estrutura genética (HUBER et al., 2008; GLASSER; GOMES, 2000; KILPATRICK et al., 2010).

Aedes aegypti, vetor da dengue, possui ampla e rápida propagação com prevalência em áreas tropicais e subtropicais. Para realização do seu controle são necessárias iniciativas as quais busquem informações meteorológicas e a compreensão acerca dos seus padrões sazonais (WHO, 2012). Em estudos realizados por Estallo et al. (2013) foi observado uma estabilidade espacial no período de seca em populações de *A. aegypti* em pontos onde ocorre picos de atividade de oviposição. O mesmo foi observado por Barrera (2011) em dois bairros de San Juan, Porto Rico, onde também foi possível observar a alteração desta estabilidade no

período de alta pluviosidade, remetendo a ocorrência do controle deste vetor para o período de seca.

A dinâmica populacional do *A. aegypti* possui um forte perfil sazonal (CODEÇO et al., 2009; HONÓRIO et al., 2009), em regiões subtropicais os efeitos da sazonalidade resultam em maior ocorrência populacional durante os meses quentes, como em Buenos Aires, Argentina (VEZZANI; CARBAJO, 2008). Porém, a sazonalidade muda com a latitude. Nas regiões equatoriais, a variação ocorre de maneira sutil, como em Manaus, Brasil que a temperatura é alta durante todo o ano com uma longa temporada de chuvas (RÍOS-VELASQUEZ et al., 2007). Segundo Honório et al. (2009) temperaturas abaixo de 22°C contribuem para a redução do tamanho populacional dos mosquitos.

Em estudos realizados no município de Potim, estado de São Paulo, foi observado a presença do *A. aegypti* em todas as estações do ano, com menor prevalência nos meses de julho, novembro e dezembro e picos populacionais durante o mês de abril, período de baixa pluviosidade (SERPA et al., 2006). Um comportamento diferente foi encontrado em Boa Vista, Roraima, onde grandes picos na população do *A. aegypti* foram observados durante a estação chuvosa, entre os meses de maio e agosto (CODEÇO et al., 2009).

Fatores ambientais e intervenções de controle como clima, disponibilidade de sítios de oviposição, controle de vetores através de inseticidas a densidade populacional humana, podem afetar profundamente a estrutura genética de populações de *A. aegypti*, bem como de outras espécies de mosquitos (MOUSSON et al., 2002; BOSIO et al., 2005; PAUPY et al., 2005).

Em populações de diferentes regiões da Venezuela, observou-se que há diferenças genéticas em todas as populações mesmo em pequenas distâncias (15 km), a causa desta diferença pode ser compreendida através do restrito nível de migração de genes entre as populações, causadas através de barreiras geográficas que limitam o fluxo gênico, como também o uso de inseticidas, resultando na seleção e conseqüentemente na ocorrência de populações diferenciadas geneticamente e mais resistentes a inseticidas (HERRERA et al., 2006). No entanto, o transporte humano de ovos de *A. aegypti* e o controle do vetor com inseticidas podem auxiliar para que populações geograficamente distantes possuam estrutura genética semelhante (GORROCHOTEGUI-ESCALANTE et al., 2002; BOSIO et al., 2005). Na Tailândia, observou-se que a deriva genética desempenha um papel importante na variação genética, culminando em um elevado grau de diferenciação genética (BOSIO et al., 2005).

A estrutura genética do *A. aegypti* também está relacionada com a variação temporal, por exemplo, na estação seca há maior migração dos mosquitos em busca de locais para

oviposição ocorrendo diminuição na diferenciação genética entre as populações, durante a estação chuvosa o grande número de criadores resulta em menor migração fazendo com que a diferenciação genética seja aumentada (HUBER et al., 2002; PAUPY et al., 2003). Em Botucatu, estado de São Paulo, foi observado que a resistência dos ovos de *A. aegypti* contra dessecação durante o período seco o qual contribui para a manutenção eficaz da população e a preservação da variabilidade genética (CAMPOS et al., 2012).

A compreensão destes padrões genéticos é importante para rastrear e prevenir o movimento de genes, tendo em vista que as diferenças genéticas do *A. aegypti* são importantes na resistência a inseticidas (BOSIO et al., 2005) e na competência vetorial (PAUPY et al., 2003).

2.4 Marcadores moleculares

Marcadores moleculares são sequências de DNA que revelam polimorfismo em indivíduos geneticamente relacionados, apresentando padrão de herança mendeliana. Os mesmos podem ser aplicados para diversos fins, como filogenia, ecologia, genética de populações, mapeamentos e análises de similaridade e distância genética (LOPES et al., 2002). Eles apresentam vantagens significativas em relação a técnicas de análise de proteínas, tais como a análise do genótipo ser mais robusto que a do fenótipo, como também por seus métodos, na maioria das vezes, poderem utilizar qualquer tipo de DNA, sendo este obtido de pequenas quantidades de tecido (CASTIGLIONE; BICUDO, 2003). A utilização de técnicas de genotipagem de DNA possibilita a detecção de mutações, identificação de genótipos mais resistentes a partir de um único indivíduo (SABATINI, 2003).

Há diversos tipos de marcadores moleculares utilizados em estudos de variação genética os quais podem ser classificados em dois grupos: os de hibridização e os de amplificação de DNA. RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e Minissatélites ou locos VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) integram o grupo dos marcadores identificados por hibridização, enquanto que entre os analisados através de amplificação podemos citar: RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*); SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*) ou ASA (*Amplified Specific Amplicon*); Microsatélite ou SSR (*Simple Sequence Repeats*); e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (MILACH, 1998).

Atualmente, uma variação da técnica de PCR, denominada de TaqMan® por PCR em tempo real, a qual é capaz de gerar resultados qualitativos e quantitativos, tornou-se importante para diagnósticos de patógenos e doenças genéticas, bem como identificação de SNPs associados a resistência a inseticidas químicos. Diversos estudos já foram realizados através desta técnica em taxonomia molecular de espécies do grupo *Anopheles funestus* (VEZENEGHO et al., 2009), caracterização da competência vetorial de *Culex pipiens* e *Cx. Restuans* (KILPATRICK et al. 2010), resistência a inseticidas piretróides com detecção de alelos do gene do canal de sódio, o qual conferem resistência denominadas knockdown (KDR) em *Culex pipiens pallens* (CHEN et al. 2010), mecanismos de resistência a DDT em *Anopheles gambiae* (MITCHELL et al. 2012) e em estudos de genética de populações do *Aedes aegypti* para detecção de polimorfismos SNP (SPENASSATTO, 2011).

Uma grande ênfase vem sendo dada aos estudos realizados com microssatélites e mtDNA (EIZIRICK, 1996). Os microssatélites são regiões do genoma, constituídas de repetições em tandem de 2 a 6 nucleotídeos distribuídos aleatoriamente em regiões não codificadoras. Estas regiões do genoma são caracterizadas por um alto grau polimórfico, o que os torna importantes para estudos genéticos de populações, sistemática e mapeamento genômico, sendo caracterizadas como um eficiente marcador molecular em estudos de padrões de fluxo gênico e estimativas de diferenciação genética intra e interespecífica (ESTOUP et al., 1995). A genotipagem com microssatélites utilizam um par de *primers* específico, os quais são complementares a região adjacente ao loco de microssatélite após a amplificação, através da técnica de PCR convencional, o resultado é analisado segundo o número de repetições do microssatélite, resultando em variação no tamanho do fragmento amplificado (SABATINI, 2003), a partir de eletroforese em gel de agarose, poliacrilamida (PINTO et al., 2011) ou através de eletroforese capilar automatizada (MENKSEN; KAHL, 2005).

A escolha da técnica utilizada para visualização dos fragmentos pode influenciar nas estimativas de diversidade, tendo em vista que a eletroforese em gel de agarose apresenta resolução a partir de 4 pares de bases, enquanto que em gel de poliacrilamida desnaturante é possível visualizar a separação de fragmentos que diferem em apenas um par de bases, tornando a técnica mais confiável (PINTO et al., 2011). A técnica através de eletroforese capilar apresenta alta precisão, no entanto alto custo para a realização, sendo necessária marcação dos *primers* com fluoróforos específicos (MISSIAGGIA; GRATTAPAGLIA, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a influência da variação sazonal sobre a estrutura genética e dispersão de populações naturais de *Aedes aegypti* do município de Campina Grande, através de marcadores moleculares.

3.2 Objetivos específicos

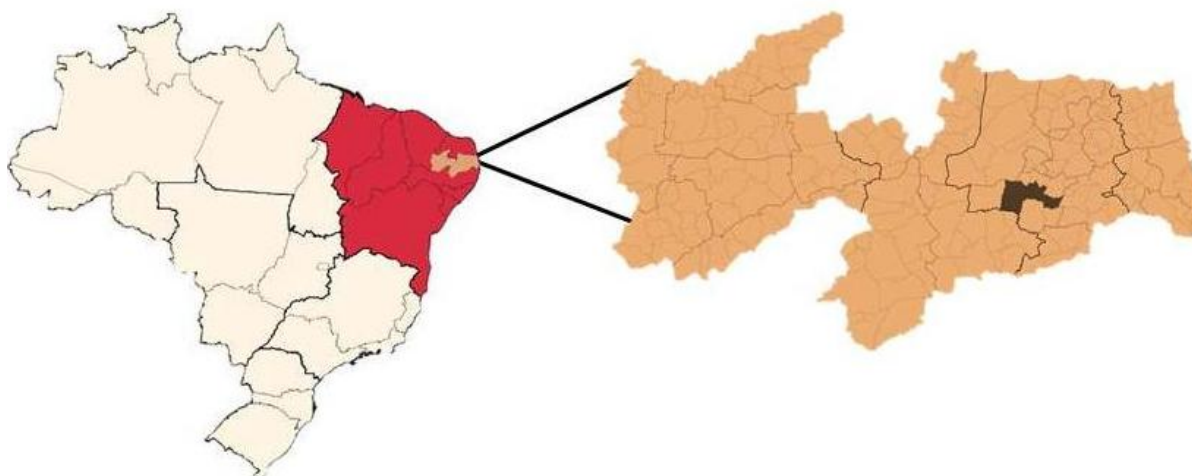
- Verificar a variação sazonal da variabilidade genética das populações naturais de *Aedes aegypti* através dos índices de heterozigosidade;
- Comparar a distribuição espacial e a ocorrência de fluxo gênico entre as populações naturais em microescala ao longo da variação temporal;
- Estimar o grau de diferenciação genética e caracterizar em diferentes níveis hierárquicos a estrutura genética das populações de *A. aegypti*;
- Verificar a influência dos fatores climáticos sobre a estruturação genética e dispersão das populações naturais de *A. aegypti* no município de Campina Grande.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo e coleta de dados entomológicos e climatológicos

O presente estudo foi realizado no município de Campina Grande (7°13'50"S/35°52'52"O), localizado na mesorregião Agreste do Estado da Paraíba, Nordeste brasileiro (Figura 2). O município possui uma área de 594,182km² com 385.213 mil habitantes (IBGE) e apresenta clima quente e úmido com chuvas de outono-inverno.

Figura 2 - Mapa do Brasil, com destaque para a Região Nordeste e o Estado da Paraíba evidenciando o município de Campina Grande.



Fonte: WEB com modificações

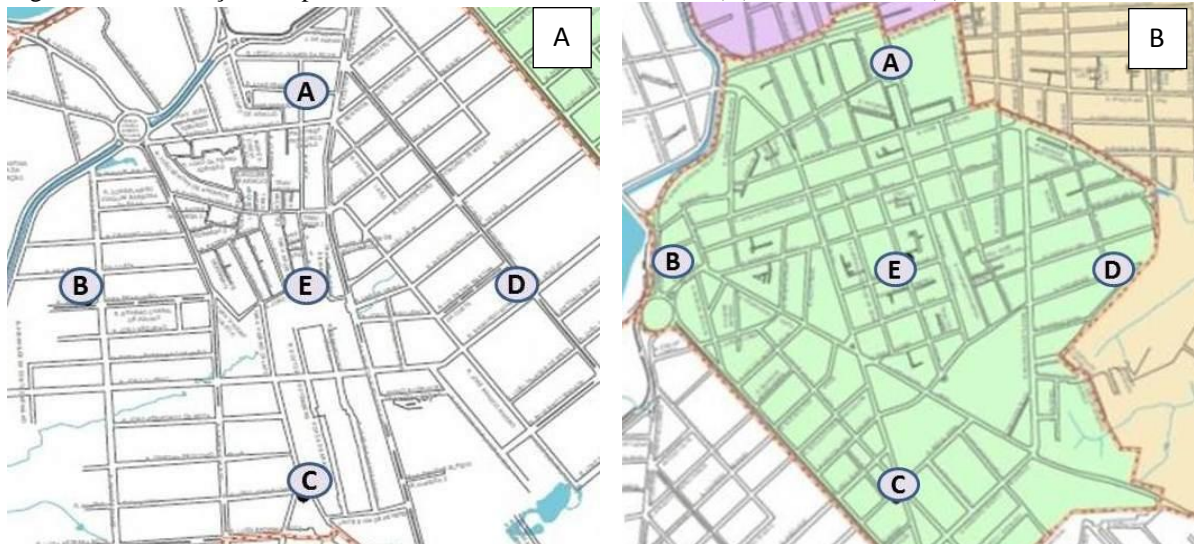
A obtenção dos ovos do *Aedes aegypti* deu-se através da realização de duas coletas, uma no período seco de 2012 no mês de janeiro e uma no período chuvoso, no mês de julho, do respectivo ano, permitindo desta forma analisar a variação temporal da variabilidade genética das populações naturais de *A. aegypti* do município de Campina Grande em escala microgeográfica. As coletas foram realizada nos bairros do Catolé e José Pinheiro, com demarcação de um ponto central (E) e a partir deste foram delimitados quatro pontos (A, B, C, D) com equidistância de 600 metros (Figura 3). Todos os pontos foram georeferenciados com utilização de um GPS Garmin de navegação <Sistema de Posicionamento Global>, com projeção UTM e “Datum” planimétrico SAD 69 (Tabela 1).

Em cada ponto houve a instalação de 10 armadilhas para coleta de ovos (ovitrampas) distribuídas aleatoriamente em residências no intra e peridomicílio. Após 72h da instalação as

ovitrampas foram recolhidas e as palhetas contendo os ovos do *A. aegypti* foram acondicionadas em caixa de isopor e levadas para o laboratório de Entomologia do Núcleo de Bioecologia e Sistemática de Insetos da UEPB, onde foi realizada a quantificação dos ovos.

Para a eclosão dos ovos, as palhetas de cada ponto foram postas em uma única bandeja de plástico e submersas em água destilada com 100mg de ração para peixe ornamental (Alcoon/Goldfish crescimento) referente a alimentação das larvas. No estágio de pupa ocorreu a realização da sexagem para estimar a razão sexual em cada ponto de coleta e após este processo as pupas foram colocadas em recipientes com água e acondicionadas em gaiolas para obtenção dos insetos adultos e posteriormente ocorreu a identificação da espécie utilizando-se uma chave dicotômica (FORATTINI, 2002).

Figura 3 - Distribuição dos pontos de coleta nos bairros do Catolé (A) e José Pinheiro (B).



Fonte: Secretaria de planejamento urbano/Prefeitura Municipal de Campina Grande

Tabela 1 - Georeferenciamento dos pontos de coleta de ovos de *Aedes aegypti* no município de Campina Grande, bairros do Catolé e José Pinheiro.

Bairro	Ponto	Coordenadas	Altitude
Catolé	A	07°13'59S/035°52'51°	522m
	B	07°14'13S/035°52'51°	529m
	C	07°13'59S/035°52'27°	528m
	D	07°13'44S/035°52'39°	539m
	E	07°13'59S/035°52'38°	529m
José Pinheiro	A	07°13'00S/035°52'13°	540m
	B	07°13'46S/035°52'25°	526m
	C	07°13'25S/035°51'58°	533m
	D	07°13'08S/035°52'12°	534m
	E	07°13'29S/035°52'14°	534m

Para comparar o índice de ovos apresentado em cada período de coleta e a relação dos fatores abióticos, foi obtido o índice pluviométrico total, média das temperaturas mínimas e média das temperaturas máximas obtidas em Campina Grande através do Instituto Nacional de Meteorologia (INMEP), para um período compreendendo entre um mês anterior e posterior ao período de cada coleta.

4.2 Análise de diversidade genética

4.2.1 Extração de DNA genômico e amplificação dos marcadores microssatélites

Dez insetos foram escolhidos ao acaso, para o isolamento do DNA genômico, cada inseto foi macerado em um microtubo de 1,5ml com solução de lise do Kit de Extração Wizard® Genomic DNA Purification (Promega), o mesmo kit foi utilizado em todas as etapas da extração seguindo as recomendações do fabricante. A qualidade e quantidade do DNA genômico foi observada em gel de agarose 0,8% através de eletroforese em Tris-Borate-EDTA/TBE 1X com corrente de 100Volts.

Após isolamento individual do DNA de cada inseto, a genotipagem foi realizada através de três pares de oligonucleotídeos iniciadores (Tabela 2) desenhados para amplificar região genômica específica com sequências de microssatélite em *A. aegypti* (SLOTMAN et al., 2007). A amplificação foi realizada através de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), em um volume final de 25µl contendo 1µl de DNA genômico, 1X tampão de reação (10 mM Tris HCl, pH 8,3, 50 mM KCl), 1,5 mM de MgCl₂, 0,5 µM de cada primer, 0,2 mM de dNTP e 0,75 unidade de *Taq* DNA polimerase.

Para a amplificação destas regiões, o DNA foi inicialmente desnaturado a 94°C durante 5 minutos, seguido de 35 ciclos, cada ciclo foi composto por uma desnaturação de 1 minuto a 94°C, anelamento dos *primers* por 1 minuto a 60°C e uma extensão de 2 minutos a 72°C, finalizando com uma extensão por 10 minutos a 72°C.

Tabela 2 - Sequência dos oligonucleotídeos e tamanho esperado dos *amplicons*.

Loco	Sequência dos primers 5'-3'	Fragmento esperado
A1	For-GACGTAAACCGAGTGGGAGA Rev- GCATTTAACCGCGCTAGAAC	153-177 pb
AC2	For-AATACAACGCGATCGACTCC Rev-AACGATTAGCTGCTCCGAAA	176-190pb
CT2	For-CGCAGTAGGCGATATTCGTT Rev-ACCACCACCAACACCATTCT	184-192 pb

4.2.2 Genotipagem em gel de poliacrilamida desnaturante

Após reação de PCR, 2 µl de cada amostra amplificada foi homogeneizada com 4 µl de tampão de carregamento (formamida 95%, azul de bromofenol 0,05% e EDTA 0,5 M) seguido por etapa de desnaturação a 95°C por 5 minutos e posterior resfriamento em gelo por 10 minutos.

Para genotipagem dos fragmentos amplificados cada amostra após desnaturação foi aplicada nos poços do gel de poliacrilamida 6% (Ureia 7M) seguido por separação eletroforética a uma potência de 60W por 2horas.

Para visualização dos fragmentos após eletroforese foi aplicado o método de coloração com prata descrito por Creste et al. (2001). Inicialmente, a placa contendo o gel foi submersa em solução fixadora contendo 10% de etanol e 1% de ácido acético, permanecendo nesta por 10 minutos sob leve agitação. Em seguida, o gel foi submerso em solução com nitrato de prata a 0,2% e após 10 minutos o gel foi retirado e submerso em solução de NaOH (Hidróxido de Sódio) 3% e formaldeído 0,54%, mantido sob lenta agitação até visualização dos locos.

4.3 Análise dos dados

Para os dados climatológicos e entomológicos, foi criado um gráfico de linhas com dados de temperatura e pluviosidade obtidos no INMEP, onde é possível observar as variações destes. Através da quantificação de ovos e sexagem de pupas, foi construído um gráfico boxplot, proporcionando a comparação da abundância de ovos e razão sexual entre os

bairros e o seu período de coleta, estes gráficos foram obtidos utilizando o programa estático R (IHAKA; GENTLEMAN, 1996), neste programa

A diversidade genética das populações foi estimada a partir da diversidade e frequência alélica, heterozigosidade esperada (H_E) e observada (H_o) de acordo com Nei (1987), utilizando-se o programa GENALEX 6,501 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

A análise de diferenciação genética entre as populações foi realizada através do método estatístico F de Wright (1951), sendo observados os valores de F_{ST} , F_{IS} e F_{IT} , como também os valores de fluxo gênico (Nm). Também foi utilizada a análise de variância molecular (AMOVA) e de coordenadas principais (PCoA), todos a partir do programa GENALEX 6,052 (PEAKALL; SMOUSE, 2012) e análise bayseana utilizando o programa STRUCTURE 2.2 (PRITCHARD et al., 2000).

5 RESULTADOS

5.1 Levantamento entomológico

Através das coletas de ovos de *Aedes aegypti* foi possível observar que o período chuvoso, o qual apresenta maior pluviosidade e menores temperaturas (Figura 4), pode estar relacionado com a oviposição, tendo em vista que neste período foram obtidos os maiores números de ovos em ambos os bairros, totalizando 2302 ovos, enquanto que no período seco o número de ovos coletados correspondeu a 1364.

O inquérito entomológico também mostrou que as populações do bairro do Catolé apresentaram maior número de oviposição em ambos os períodos, totalizando 2083 ovos coletados, com destaque para o período chuvoso que apresentou 75,5% de ovos a mais que o período seco no referido bairro. No bairro do José Pinheiro, foi obtido um total de 1583 ovos, sendo o período chuvoso responsável por 62% dos ovos coletados (Figura 5A).

Quando a análise foi realizada para cada ponto de coleta individualmente a diferença entre o período seco e o chuvoso chegou a 369% a mais no ponto A do José Pinheiro, no qual durante o período seco foi obtido 61 ovos enquanto que no chuvoso o número aumentou para 286. Por outro lado, o ponto B do mesmo bairro apresentou redução no número de oviposição no período chuvoso, tendo uma diminuição de 63 ovos coletados no período seco para 15 ovos no período chuvoso, sendo importante relatar que nenhum dos ovos obtidos neste ponto, neste período, obteve sucesso na eclosão. A comparação entre os pontos revelou que o maior número de ovos foi coletado no ponto B do bairro do Catolé no período chuvoso (Tabela 3).

A realização da sexagem na fase de pupa mostrou que as populações apresentaram maior quantidade de machos (Tabela 3). No entanto as fêmeas que são responsáveis pela hematofagia e transmissão do vírus apresentaram-se de maneira uniforme em ambos os bairros e períodos analisados (Figura 5B).

Em relação aos pontos de coleta a sexagem mostrou que ocorreu variações, porém apenas em quatro pontos foi obtido maior número de fêmeas, o ponto A do bairro do Catolé no período seco, o qual apresentou proporcionalmente maior diferença, obteve 57% de fêmeas a mais que machos. Os pontos E do bairro do Catolé e B do bairro do José Pinheiro, ambos no período seco, apresentaram mesma quantidade de machos e fêmeas, enquanto que todos os demais pontos apresentaram quantidade de fêmeas inferior a de machos (Tabela 3).

Figura 4 - Precipitação e temperaturas médias mínimas e máximas (°C) no município de Campina Grande no período de dezembro de 2011 a agosto de 2012.

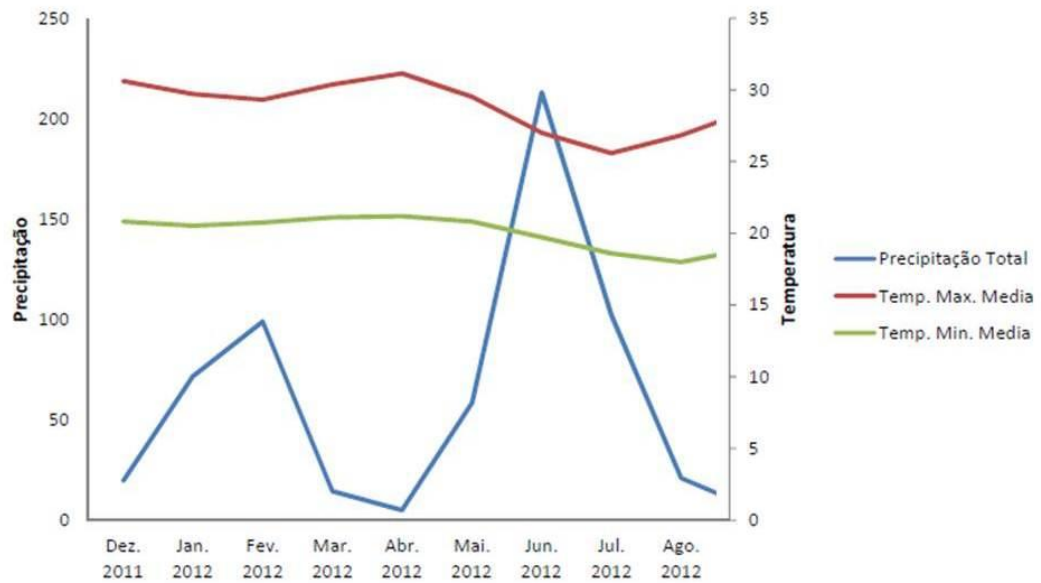
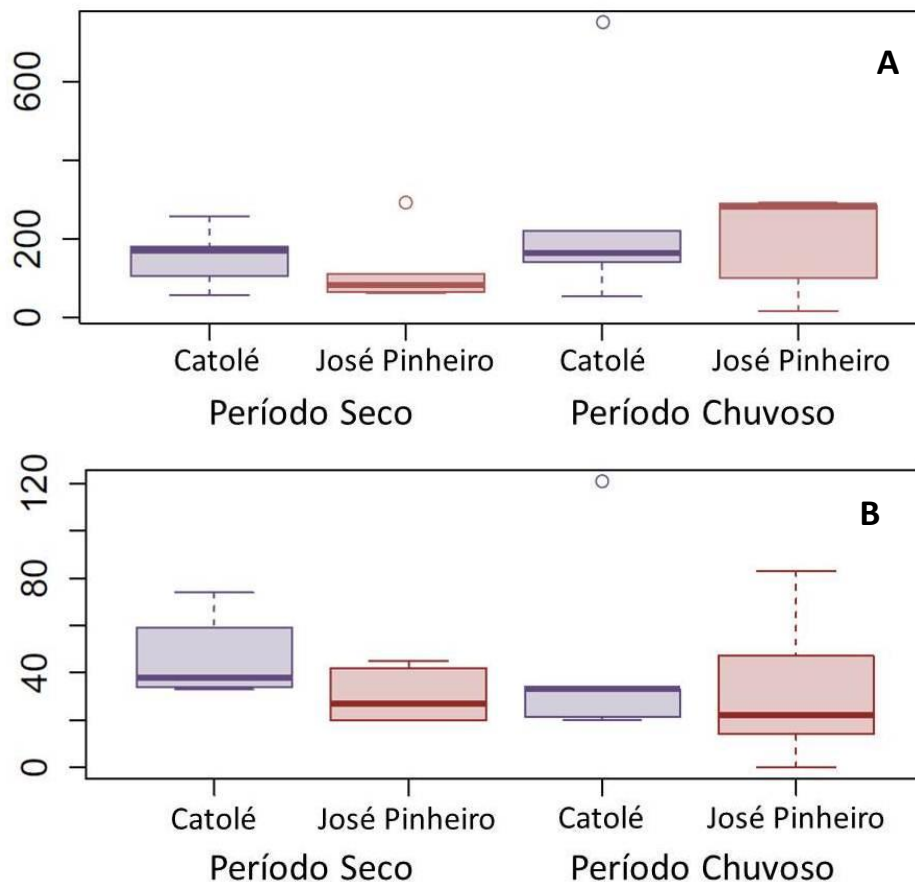


Figura 5 - Quantificação de ovos e número de fêmeas obtidos nos bairros do Catolé e José Pinheiro através das coletas de *Aedes aegypti* durante o período seco e o chuvoso. A - Quantidade de ovos. B - Quantidade de fêmeas.



O círculo acima da linha superior representa o valor discrepante superior; a linha superior e a inferior a caixa, respectivamente, o maior e menor valor não discrepante; na caixa a parte superior representa o terceiro quartil e a base o primeiro quartil; a linha que divide a caixa representa o valor mediano.

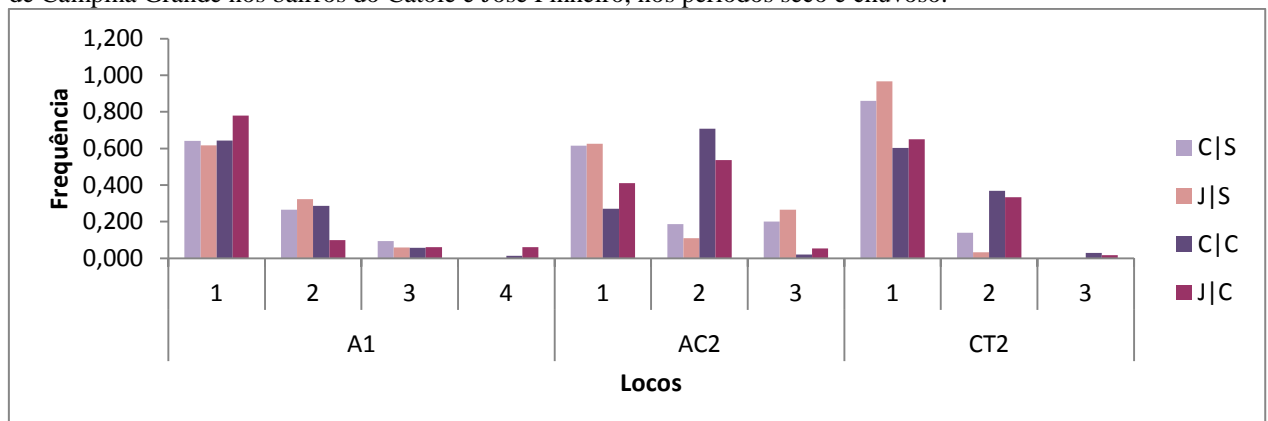
Tabela 3 - Número de ovos de *Aedes aegypti* coletados no município de campina Grande nos bairros do Catolé e José Pinheiro por ponto de coleta e sexagem dos indivíduos na fase adulta

Bairro	Ponto	Período seco			Período chuvoso		
		N° de ovos	Sexagem		N° de ovos	Sexagem	
			Machos	Fêmeas		Machos	Fêmeas
Catolé	A	57	21	33	164	36	33
	B	247	176	59	750	159	121
	C	105	58	38	53	25	20
	D	178	126	34	220	26	33
	E	169	74	74	140	29	21
	Total	756	455	238	1327	275	228
José Pinheiro	A	61	32	27	286	118	83
	B	63	20	20	15	-	-
	C	81	21	20	100	12	14
	D	111	63	45	283	41	47
	E	292	46	42	291	26	22
	Total	608	182	154	975	197	166

5.2 Diversidade genética

Para os três locos microssatélites genotipados, foram encontrados no total 10 alelos, distribuídos em 4 alelos para o loco A1 e 3 alelos nos locos AC2 e CT2. O alelo 1 do loco CT2 foi o mais frequente, presente nos dois bairros e nos dois períodos com frequência média de 0,770, enquanto que o alelo 3 do mesmo loco foi o menos frequente (0,011), presente nos dois bairros, porém apenas no período chuvoso (Figura 6).

Figura 6 - Frequência alélica total dos locos microssatélites analisados em *Aedes aegypti* coletados no município de Campina Grande nos bairros do Catolé e José Pinheiro, nos períodos seco e chuvoso.

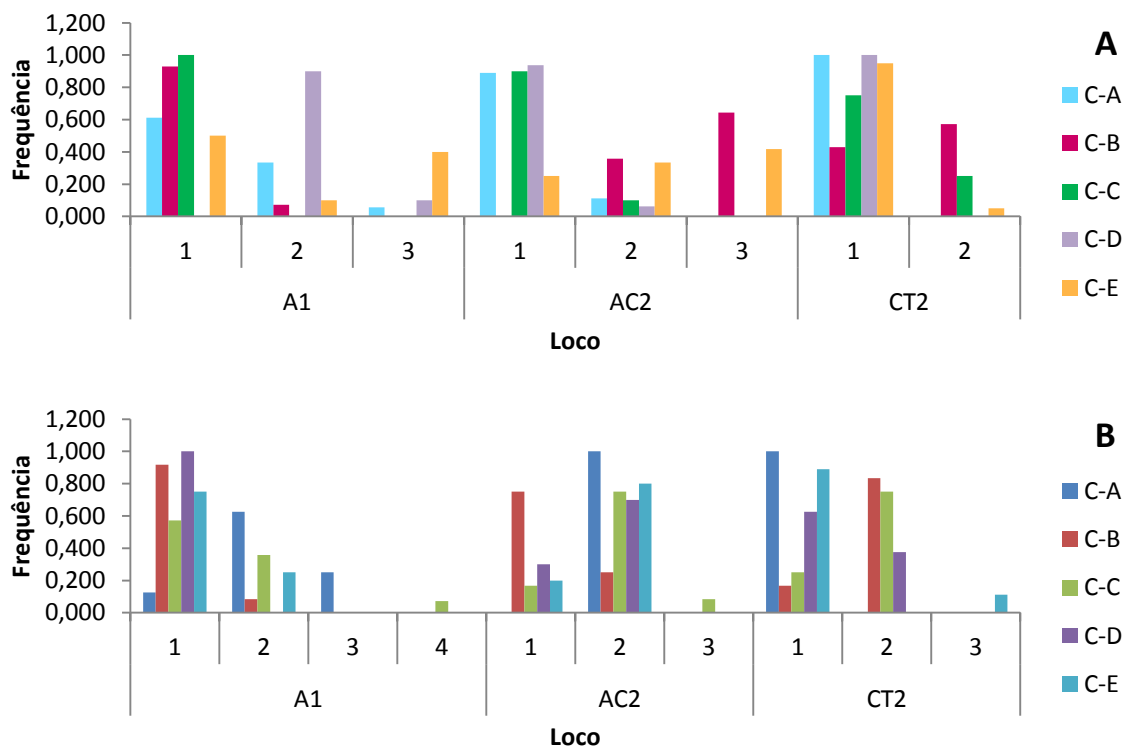


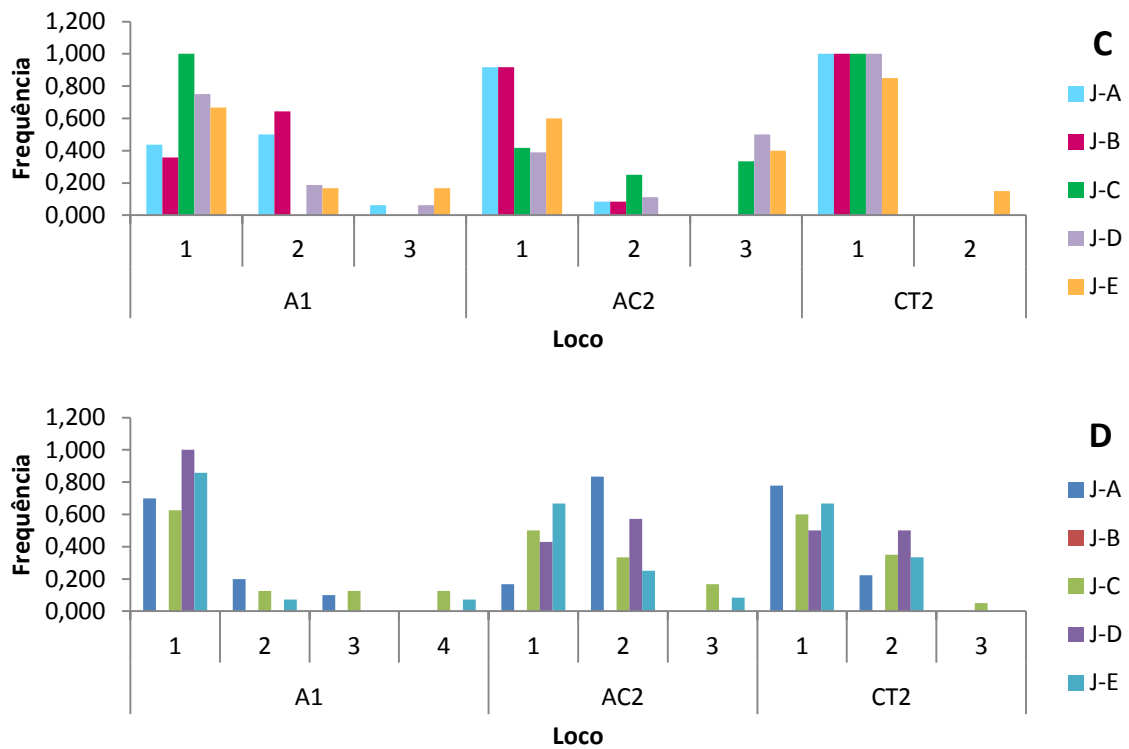
Para bairro: C = Catolé, J = José Pinheiro; período: S=seco, C=chuvoso.

Houve variação alélica de acordo com o bairro, pontos e o período estudado. O período seco apresentou 8 alelos, no período chuvoso ocorreu maior diversidade alélica com o surgimento de dois alelos, o alelo 4 do loco A1 e o alelo 3 do loco CT2. No entanto, foi possível observar o alelo 4 do loco A1 apenas no ponto C do Catolé e nos pontos C e E do José Pinheiro, e o alelo 3 do loco CT2 foi presente apenas em dois pontos, E do Catolé e C do José Pinheiro.

Dentre os locos estudados apenas o CT2 obteve um alelo presente em todos os pontos nos dois períodos, alelo 1, porém este alelo sofreu redução de frequência no período chuvoso, no período seco sua frequência foi de 0,916, enquanto que no período chuvoso foi de 0,625. O alelo 1 do loco A1, no período seco, foi ausente apenas no ponto D do Catolé (Figura 7A), já no período chuvoso ele foi presente em todos os pontos (Figura 7B), o contrário aconteceu com o alelo 2 do loco AC2, que estava presente em todos os pontos no período seco, porém no período chuvoso esteve ausente no ponto E do José Pinheiro. O alelo 2 do loco CT2 no bairro do José Pinheiro no período seco, foi visualizado apenas no ponto E (Figura 7C), porém no período chuvoso este alelo foi observado em todos os pontos estudados do referido bairro (Figura 7).

Figura 7 - Frequência alélica dos locos de microssatélites analisados em populações de *Aedes aegypti* do município de Campina Grande, nos bairros do Catolé e José Pinheiro, por ponto de coleta. A: Populações do bairro do Catolé, período seco; B: Populações do bairro do Catolé, período chuvoso; C: Populações do bairro do José Pinheiro, período seco; D: Populações do bairro do José Pinheiro, período chuvoso.





Para bairro: C = Catolé, J = José Pinheiro; pontos de coleta: A, B, C, D, E.

Comparando-se os bairros e os períodos de coleta, a maior e menor heterozigidade observada (H_O) foram obtidas no bairro do José Pinheiro, respectivamente, no período seco ($H_O = 0,307$) e no período chuvoso ($H_O = 0,238$). Para a heterozigidade esperada (H_E) o maior valor observado foi no bairro do Catolé ($H_E = 0,476$) no período chuvoso e a menor heterozigidade esperada ($H_E = 0,367$) no bairro do José Pinheiro, período seco (Tabela 4).

Tabela 4 - Índice de diversidade genética de populações de *Aedes aegypti* do município de Campina Grande, no bairros do Catolé e José Pinheiro, nos períodos seco e chuvoso obtidos através de três locos microssatélites.

Bairro- Período	Loco	N	Na	Ne	Ho	He	uHe	F
C-S	A1	32	3,000	2,042	0,281	0,510	0,518	0,449
	AC2	35	3,000	2,213	0,343	0,548	0,556	0,375
	AC3	43	2,000	1,316	0,233	0,240	0,243	0,032
	Média	36,667	2,667	1,857	0,286	0,433	0,439	0,285
	SE	3,283	0,333	0,275	0,032	0,097	0,099	0,129
J-S	A1	34	3,000	2,042	0,324	0,510	0,518	0,366
	AC2	32	3,000	2,114	0,531	0,527	0,535	-0,008
	AC3	46	2,000	1,067	0,065	0,063	0,064	-0,034
	Média	37,333	2,667	1,741	0,307	0,367	0,372	0,108
	SE	4,372	0,333	0,337	0,135	0,152	0,154	0,129
C-C	A1	35	4,000	2,007	0,314	0,502	0,509	0,373
	AC2	24	3,000	1,738	0,292	0,424	0,434	0,313

	AC3	34	3,000	2,002	0,206	0,500	0,508	0,589
	Média	31,000	3,333	1,915	0,271	0,476	0,483	0,425
	SE	3,512	0,333	0,089	0,033	0,026	0,025	0,084
J-C	A1	25	4,000	1,598	0,240	0,374	0,382	0,359
	AC2	28	3,000	2,181	0,107	0,541	0,551	0,802
	AC3	30	3,000	1,873	0,367	0,466	0,474	0,213
	Média	27,667	3,333	1,884	0,238	0,461	0,469	0,458
	SE	1,453	0,333	0,168	0,075	0,048	0,049	0,177

Para bairro: C = Catolé, J = José Pinheiro; período: S=seco, C=chuvoso. SE = Desvio padrão; N = Número de indivíduos; Na = Número de alelos; Ne = Número de alelos efetivos; Ho = Heterozigosidade observada; He = Heterozigosidade esperada; UHe = Heterozigosidade imparcial; F = Índice de fixação.

Entre os pontos de cada bairro, no período seco, os maiores e menores valores de H_O e H_E foram obtidos no bairro do Catolé. O ponto D apresentou os menores valores ($H_O = 0,108$ e $H_E = 0,099$), enquanto que o ponto E os maiores valores ($H_O = 0,578$ e $H_E = 0,443$). No período chuvoso, o maior valor de H_O foi observado no ponto E do bairro do Catolé ($H_O = 0,374$) e o menor valor no bairro do José Pinheiro, ponto D ($H_O = 0,067$). Para H_E o menor valor foi visualizado no bairro do Catolé através do ponto A ($H_E = 0,177$) e o maior valor no ponto C do bairro do José Pinheiro ($H_E = 0,563$).

5.3 Estrutura genética

A análise de variação genética através do método estatístico F de Wright (1951), mostrou alto índice de fluxo gênico (Nm) e pouca variação entre os períodos estudados, período seco (Nm = 53,041) e período chuvoso (Nm = 51,149). O F_{ST} mostrou valores baixos em ambos os períodos, 0,015 no período seco e 0,019 no período chuvoso, mostrando que as populações possuem alto nível de similaridade genética. Para o F_{IS} , em ambos os períodos foi encontrado déficit de heterozigotos, com valor de 0,204 no período seco e 0,454 no período chuvoso (Tabela 5).

A análise de variância molecular (AMOVA), realizada a partir dos dados obtidos das populações dos bairros do Catolé e José Pinheiro mostraram que as populações possuem grandes percentagens de diferenciação genética dentro das populações (76%), sendo que entre as populações este valor é reduzido para 16% de variação e entre as regiões a variação é de apenas 8% de diferenciação (Figura 8). O maior índice de fixação foi encontrado dentro das populações, $F_{ST} = 0,238$ (Tabela 6).

Tabela 5 - Valores de diferenciação genética de acordo com as estatísticas F de Wright e fluxo gênico das populações de *Aedes aegypti*, do município de Campinha Grande, bairros do Catolé e José Pinheiro, no período seco e chuvoso, levando-se em consideração os bairros estudados.

Período	Loco	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm
Seco	A1	0,407	0,409	0,002	100,047
	AC2	0,187	0,191	0,005	52,444
	CT2	0,018	0,054	0,036	6,630
	Média	0,204	0,218	0,015	53,041
	SE	0,113	0,103	0,011	26,969
Chuvoso	A1	0,367	0,387	0,031	7,907
	AC2	0,587	0,598	0,025	9,576
	CT2	0,408	0,409	0,002	135,964
	Média	0,454	0,464	0,019	51,149
	SE	0,068	0,067	0,009	42,410

Figura 8 - Percentagens de variância molecular entre as populações de *Aedes aegypti* do município de Campinha Grande, nos bairros do Catolé e José Pinheiro

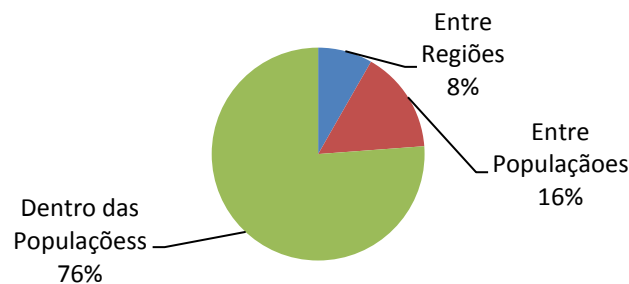


Tabela 6 - Análise de variância molecular (AMOVA) de regiões microssatélites de populações de *Aedes aegypti* do município de Campinha Grande, nos bairros do Catolé e José Pinheiro nos períodos seco e chuvoso.

	GL	%	Índice de fixação	P ≥
Entre regiões	1	8%	$F_{RT} = 0,083$	0,001
Entre populações	18	16%	$F_{SR} = 0,170$	0,001
Dentro das populações	380	76%	$F_{ST} = 0,238$	0,001

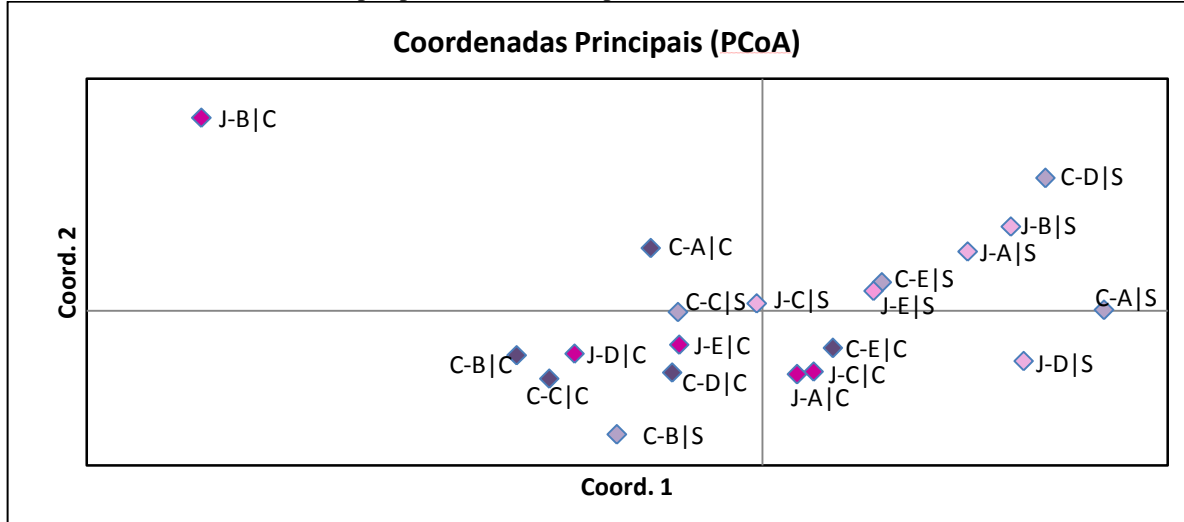
GL= Grau de liberdade; F_{RT} : Correlação entre as populações dos grupos entre as regiões; F_{SR} : Correlação entre as populações dentro das regiões; F_{ST} : Correlação entre os indivíduos das populações.

Análises de agrupamento também foram realizadas a fim de revelar a estruturação das populações, as quais foram obtidas através da análise de coordenadas principais (PCoA), análise bayesiana e construção de dendograma.

A análise de coordenadas principais (PCoA) realizada por pontos de coleta revelou que há maior variação no eixo 1, onde o agrupamento foi responsável por 54,72%, o eixo dois apresentou agrupamento de 20,24% com predominância de agrupamento dos pontos por

período climático (Figura 9), mostrando que possivelmente as diferenças dos grupos estão associadas aos efeitos climáticos e não por distribuição geográfica.

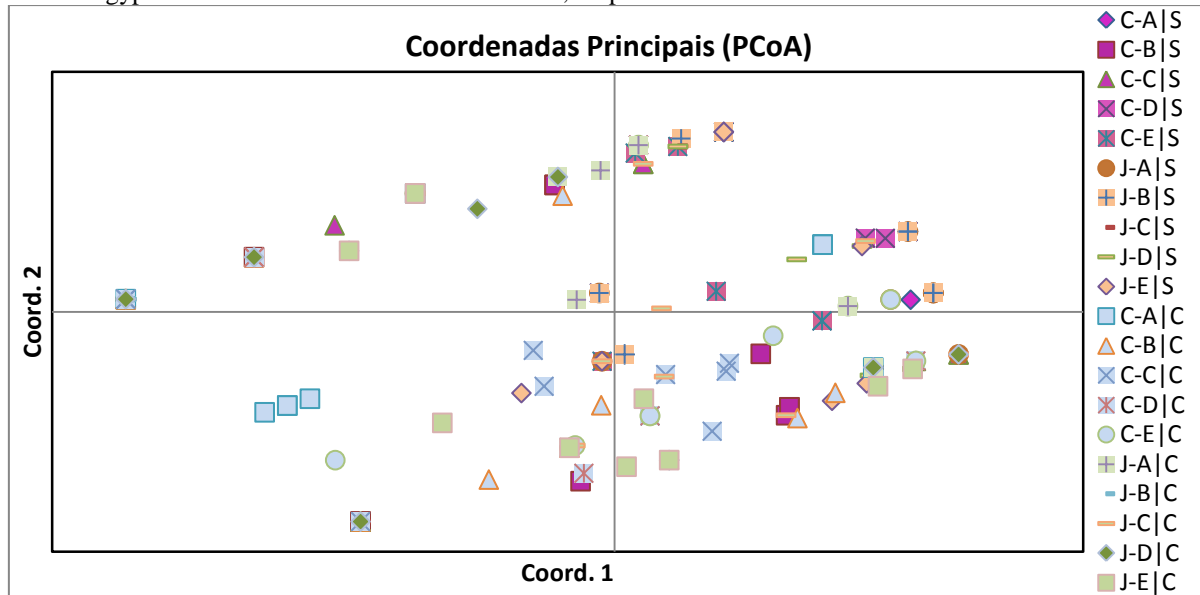
Figura 9 - Análise das coordenadas principais, mostrando o agrupamento das populações de *Aedes aegypti* dos bairros do Catolé e José Pinheiro, por ponto de coleta no período seco e chuvoso.



A primeira letra é referente ao bairro: C = Catolé, J = José Pinheiro; a segunda letra é referente ao ponto de coleta (A, B, C, D, E) e a última letra ao período da coleta: S = seco, C = chuvoso.

Quando a PCoA foi realizada levando em consideração os indivíduos, houve uma redução na percentagem dos eixos 1 e 2 para 55,10%, a distribuição para os eixos foi de 33,26% para o eixo 1 e 21,84% para o eixo 2. Através desta análise foi possível observar a presença de dois grupos, compostos por indivíduos coletados nas duas áreas, embora estejam presentes em ambos os grupos, apresentando separação por período de coleta (Figura 10).

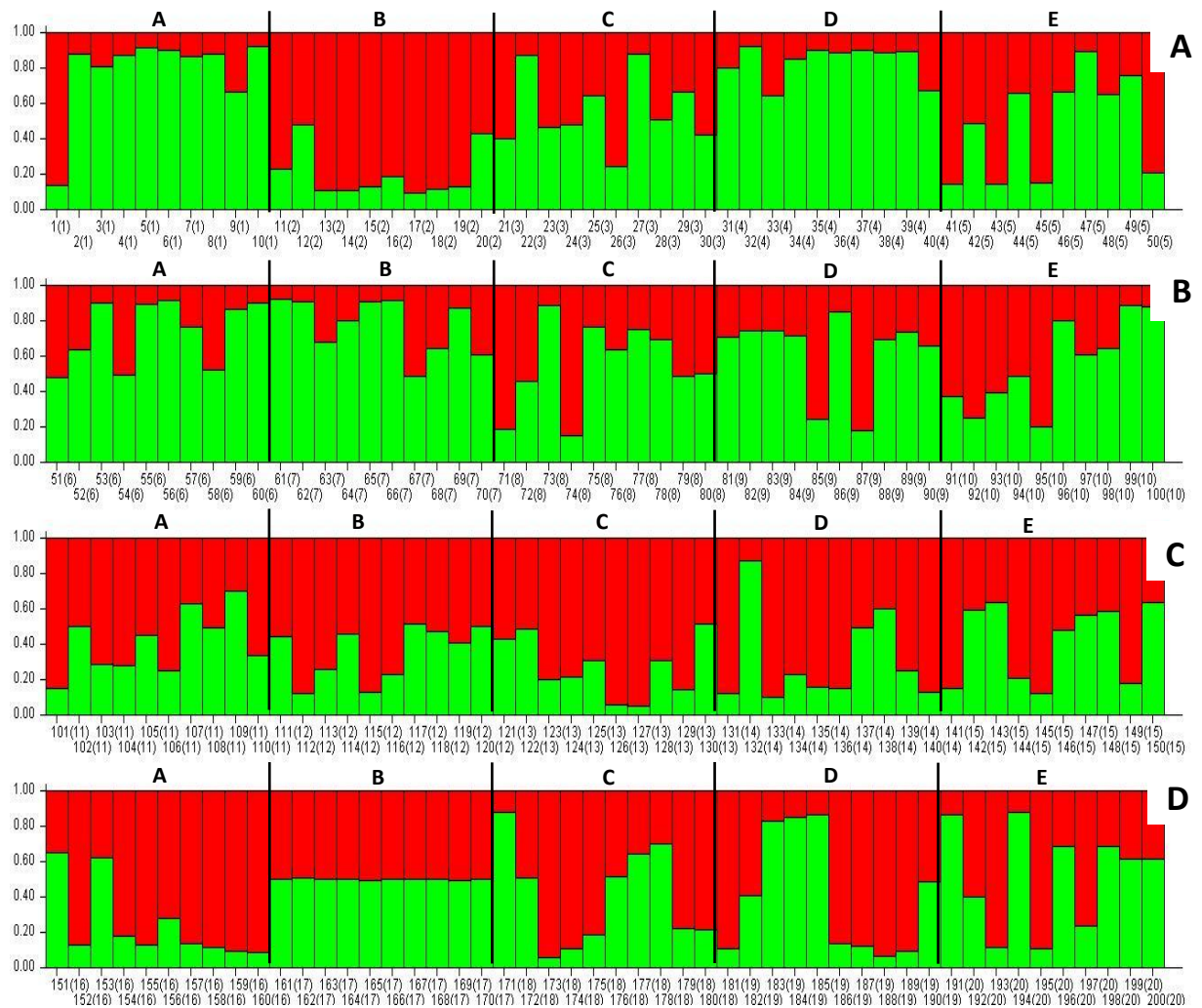
Figura 10 - Análise das coordenadas principais, mostrando o agrupamento dos indivíduos das populações de *Aedes aegypti* dos bairros do Catolé e José Pinheiro, no período seco e chuvoso.



A primeira letra é referente ao bairro: C = Catolé, J = José Pinheiro; a segunda letra é referente ao ponto de coleta (A, B, C, D, E) e a última letra ao período da coleta: S = seco, C = chuvoso.

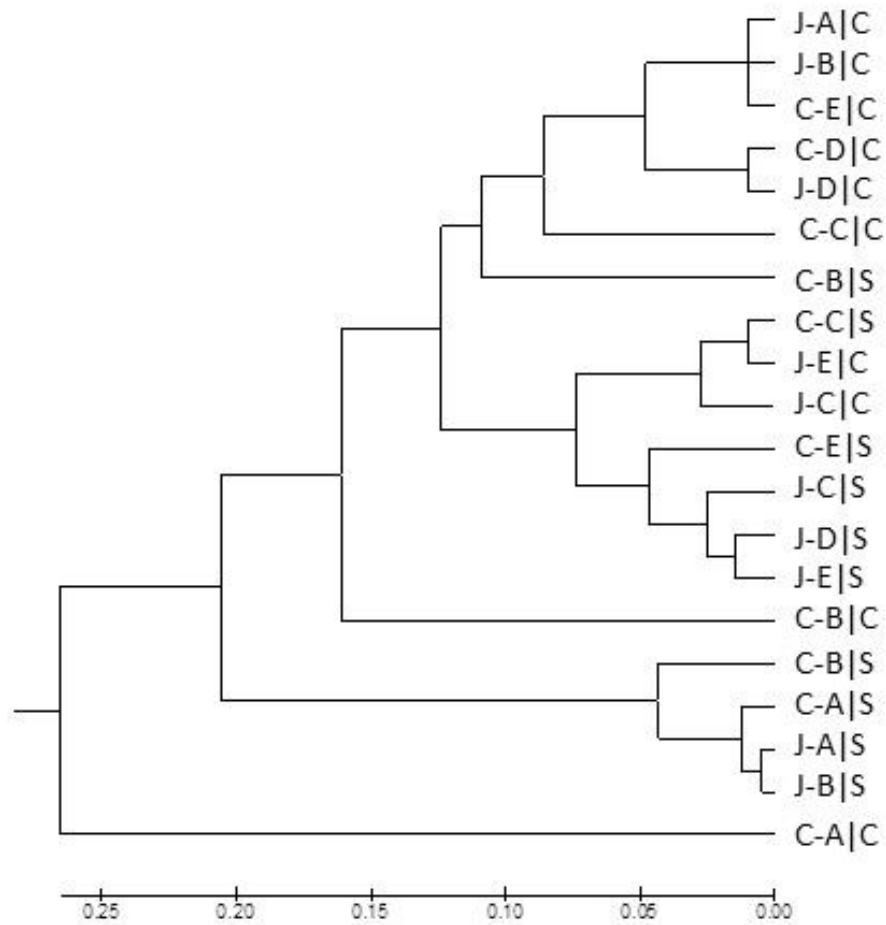
A análise bayesiana mostrou a existência de dois *clusters*, representados em vermelho e verde, sendo possível observar a predominância do *cluster* verde nos bairros do Catolé e José Pinheiro durante o período seco (Figura 11A-B). Neste período a predominância do *cluster* vermelho foi observada apenas no ponto B do Catolé (Figura 11A). Por outro lado, nas populações do período chuvoso, a análise bayesiana indica que entre estes períodos ocorreu migração de indivíduos pertencentes ao *cluster* vermelho, tendo em vista que houve predominância deste *cluster* em todas as populações (Figura 11C-D).

Figura 11 - Análise bayesiana, mostrando a probabilidade de ancestralidade das populações de *Aedes aegypti* nos bairro do Catolé e do José pinheiro. A: Populações do bairro do Catolé no período seco; B: Populações do bairro do José Pinheiro no período seco; C: Populações do bairro do Catolé no período chuvoso; D: Populações do bairro do José Pinheiro no período chuvoso.



A análise de agrupamento realizada a partir da distância genética de Nei foi mostrou que o agrupamento das populações ocorreu através dos períodos estudados e não através da distancia geografia entre eles (Figura 12)

Figura 12 – Dendograma mostrando o agrupamento das populações de *Aedes aegypti* nos bairros do Catolé e José Pinheiro no período seco e chuvoso, através do índice de distância genética.



A primeira letra é referente ao bairro: C = Catolé, J = José Pinheiro; a segunda letra é referente ao ponto de coleta (A, B, C, D, E) e a última letra ao período da coleta: S = seco, C = chuvoso.

6 DISCUSSÕES

Os resultados obtidos através do levantamento entomológico mostraram que no período chuvoso ocorreu maior número de oviposição. Miyazaki et al. (2009), através de monitoramento mensal do *Aedes aegypti* em Cuiabá, Mato Grosso, obtiveram resultados semelhantes, ao quais mostraram que de novembro a maio há menor oviposição, enquanto que nos meses de julho e agosto, período de chuva, ocorreu aumento da oviposição, este fato está associado ao maior número de criadouros disponíveis devido a maior pluviosidade. De acordo com Nasci (1991), a maior disponibilidade de sítios de oviposição resulta em fêmeas maiores, as quais realizam maior quantidade de repasto sanguíneo, realizando maior número de oviposição. No entanto, a maior oviposição no período chuvoso não influencia no número de casos de dengue. Paupy et al (2003), relatam que a temperatura influencia na transmissão do vírus da dengue. Fêmeas infectadas, submetidas a elevadas temperaturas, possuem 2,64 vezes mais chances de completar o período de replicação do vírus, do que fêmeas submetidas a baixas temperaturas (JETTEN; FOCKS, 1997; HALSTEAD et al., 2008).

A variação da diversidade genética encontrada a partir de três locos de microssatélites, revelando a presença de 10 alelos, sendo 3 para os locos AC2 e CT2 e 4 para o loco A1, é relativamente semelhante a encontrada por Slotman et al. (2007), em pesquisa realizado com 17 insetos de Lao Bao, centro-oeste da Tailândia, a qual o número de alelos encontrados para o loco CT2 foi o mesmo observado no presente estudo, já para o loco AC2 ele encontrou 5 alelos e neste trabalho foi observado apenas 3 alelos.

O número de alelos variou conforme o período estudado, o período chuvoso obteve maior riqueza com a presença dos 10 alelos, no período seco estiveram ausentes o alelo 4 do loco A1 e o alelo 3 do loco CT2. Também foi possível observar variação na frequência alélica nos pontos entre o período seco e o chuvoso, como a presença do alelo 2 do loco CT2 apenas no José Pinheiro apenas no ponto E, enquanto que este alelo quando no período chuvoso esteve presente em todos os pontos. Essas variações alélicas são causadas devido a mudanças climáticas e ambientais, as quais podem proporcionar maior número de sítios de oviposição ou menor, interferindo no fluxo gênico entre as populações, como também, por esta espécie ser o principal vetor da dengue periodicamente há campanhas de controle a este mosquito, com aplicação de inseticidas químicos. Em estudo realizado por Paupy et al. (2003) em quatro cidades de Cambodja, foi observado que em Seam Reap, cidade com constante utilização de inseticidas as populações eram subdividas, possuindo grande índices de

diferenciação genética, enquanto que na cidade de Kampong Som, a qual possui menor uso de inseticidas as populações apresentaram-se com menor variação na estrutura genética.

Os valores obtidos para heterozigosidade observada (H_O) e heterozigosidade esperada (H_E) foram semelhantes aos obtidos por Mendonça (2010), em trabalho de variação espaço-temporal de populações de *A. aegypti* realizado com nove locos microssatélites em quatro populações de Manaus, estado do Amazonas, o qual no período seco o valor de H_O (0,474) foi maior que no período chuvoso (0,472) e para a H_E foi encontrado maior valor no período chuvoso ($H_E = 0,588$) e menor valor no período seco (0,564).

Os resultados obtidos através das análises de diferenciação genética revelaram elevado índice de fluxo gênico (Nm) no período seco (Nm = 53,041) e chuvoso (Nm = 51,149) e consequente baixa diferenciação genética nestes períodos (seco: $F_{ST} = 0,015$; chuvoso: $F_{ST} = 0,019$) e déficit de heterozigotos em ambos os períodos. Em estudos de dispersão em populações de *A. aegypti* do Rio de Janeiro, Honório et al. (2003) relataram a presença de frequente migração entre populações equidistantes até 800 metros. Maciel-de-Freitas e Lourenço-de-Oliveira (2009) desenvolveram pesquisas com fêmeas marcadas com fluorescência e relatam que as fêmeas possuem dispersão de até 690 metros. Essas pesquisas sugerem que os valores encontrados no presente estudo podem ter resultado devido à proximidade dos pontos de coleta (600m) e da localização dos bairros, tendo em vista que eles são vizinhos, fazendo com que ocorra constante migração.

A análise de variância molecular (AMOVA) evidenciou que as populações não estão estruturadas ao mostrar que a maior diferenciação genética encontra-se dentro das populações (76%). Resultados similares foram encontrados por Lima (2010) com populações de *A. aegypti* provenientes da Amazônia, utilizando marcadores microssatélites obteve diferenciação genética dentro da população de (68%). Estes resultados sugerem que as populações provavelmente migraram para estes pontos e foram estabelecidas recentemente, estando, ainda, em processo de estruturação.

A análise bayesiana mostrou a presença de dois *clusters* que, provavelmente, sofrem variação em sua frequência alélica de acordo com as mudanças climáticas. No período chuvoso, ocorreu predominância do *cluster* vermelho, podendo ter sido causada através de insetos provenientes a partir do ponto B do Catolé no período seco, pois é possível observar que este foi o primeiro ponto ao qual o *cluster* vermelhou iniciou sua predominância. Paupy et al. (2010) trabalhando com variabilidade genética em *A. aegypti* no Senegal por meio de microssatélites, também encontrou mudanças nos *clusters* de acordo com a sazonalidade, no entanto ao invés de predominância de um *cluster* já existente, ele observou variação no

número de clusters, no período seco ele encontrou dois *clusters*, enquanto que no chuvoso ocorreu a presença de sete *clusters*.

Os dados da análise bayesiana corroboram com os obtidos através da AMOVA, PCoA e com a análise de agrupamento realizada a partir da distância genética de Nei a qual foi possível observar que o agrupamento das populações teve maior influência do período climático do que da distribuição espaço-geográfica dos pontos de coleta como pode ser verificado no caso do primeiro grupo do dendograma que mostra as populações dos pontos A e B do José Pinheiro e E do Catolé, ambas do período do inverno unidas ,remetendo que a distância geográfica possui menor influência na estruturação genética do que os fatores climáticos, pois a população do ponto E do Catolé encontra-se no centro das populações do referido bairro, sendo desta forma relativamente isolada das populações do José Pinheiro.

7 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização do presente trabalho pode-se concluir que há necessidade de maior intervenção de controle do *Aedes aegypti* no período chuvoso, devido o elevado número de oviposição, causando aumento populacional além do aumento na diversidade genética. Porém, a intervenção deve ser contínua, tendo em vista que a migração dos insetos faz com que haja fluxo gênico entre os períodos, possibilitando dispersão de locos associados com resistência a inseticidas químicos.

Os locos microssatélites utilizados foram polimórficos, sendo considerados úteis para utilização em estudos de genética nas populações estudadas.

As populações mostraram valores de fluxo gênico superior a 50 em ambos os períodos, podendo ser consideradas uma única população.

Os resultados das análises de estruturação genética mostraram que o clima apresenta maior influência na estrutura genética destes insetos do que a distância geográfica.

Desta forma, é possível afirmar que trabalhos de avaliação espaço-temporal e variação genética de populações de *A. aegypti* são importantes por apresentarem dados que explicam fatores que agem na estrutura genética destes insetos em um tempo relativamente curto, podendo desta forma, ser traçado métodos de controle mais eficazes.

REFERÊNCIAS

- BARRERA, R., Spatial Stability of Adult *Aedes aegypti* Populations. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 85(6): 1087–1092, 2011.
- BERG, H. V. D.; VELAYUDHAN, R.; EBOL, A.; CATBAGAN-JR, B. H.; TURINGAN, R.; TUSO, M.; HIL, J., Operational efficiency and sustainability of vector control of malaria and dengue: descriptive case studies from the Philippines. **Malaria Journal**, 11: 269, 2012.
- BESERRA, E. B.; CASTRO-JR., F. P.; SANTOS, J. W.; SANTOS, T. S.; FERNANDES, C. R. M., Biologia e Exigências Térmicas de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) Provenientes de Quatro Regiões Bioclimáticas da Paraíba. **Neotropical Entomology**, 35(6): 853-860, 2006.
- BONDS, M. H.; DOBSON, A. P.; KEENAN, D. C., Disease Ecology, Biodiversity, and the Latitudinal Gradient in Income. **PLoS Biology**, 10(12): 2012.
- BOSIO, F. C.; HARRINGTON L.C.; JONES, J.W.; SITHIPRASASNA, R.; DOUGLAS E.; NORRIS, D.E.; SCOTT, T. W., Genetic structure of *Aedes aegypti* populations in Thailand using mitochondrial DNA. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**; 72(4): 434–442, 2005.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D., *Aedes aegypti*: Histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**; 16(2): 113-118, 2007.
- CAMPOS, M.; SPENASSATTO, C.; MACORIS, M. L. G.; PADUAN, K.S.; PINTO, J.; RIBOLLA, P. E. M. Seasonal population dynamics and the genetic structure of the mosquito vector *Aedes aegypti* in São Paulo, Brazil. **Ecology and Evolution**; 2(11): 2794–2802, 2012.
- CASTIGLIONE, L.; BICUDO, H. E. M. C., A Técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e suas aplicações para estudos em genética molecular. **Revista UNORP**, 3(2): 63-77, 2003.
- CHEN, L.; ZHONG, D.; ZHANG, D.; SHI, L.; ZHOU, G.; GONG, M.; ZHOU, H.; SUN, Y.; MA, L.; JI HE, J.; HONG, S.; ZHOU, D.; XIONG, C.; CHEN, C.; ZOU, P.; ZHU, C.; YAN, G., Molecular Ecology of Pyrethroid Knockdown Resistance in *Culex pipiens pallens* Mosquitoes. **PLoS ONE**, 5(7): 11681, 2010.
- CODEÇO, C. T.; HONÓRIO, N. A.; RÍOS-VELÁSQUEZ, C. M.; SANTOS, M. C. A.; MATTOS, I. V.; LUZ, S. B.; REIS, I. Z.; CUNHA, G. B.; ROSA-FREITAS, M. G.; TSOURIS, P.; CASTRO, M. G.; HAYD, R. L. N.; LUITGARDS-MOURA, J. F., Seasonal

dynamics of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the northernmost state of Brazil: a likely port-of-entry for dengue virus 4, **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 104(4): 614-620, 2009.

COSTA-DA-SILVA, A. L.; MACIEL, C.; MOREIRA, L. A.; CAPURRO, M. L., Tópicos avançados em entomologia molecular: Mosquitos transgênicos para o controle de doenças tropicais. **Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular**, 2012.

COSTA-RIBEIRO, M. C. V.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; FAILLOUX, A. B., Geographic and temporal genetic patterns of *Aedes aegypti* populations in Rio de Janeiro, Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, 11 (8): 1276–1285, 2006.

CRESTE, S.; TULMANN-NETO, A.; FIGUEIRA, A., Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, 19: 299-306, 2001.

EIZIRICK, E., Ecologia molecular, genética da conservação e o conceito de unidades evolutivamente significativas. **Brazilian Journal of Genetics**; 19(4): 23-29, 1996.

ENDERSBY, N. M.; HOFFMANN, A. A.; WHITE, V. L.; LOWENSTEIN, S.; RITCHIE, S.; JOHNSON, P. H.; RAPLEY, L. P.; RYAN, P. A.; NAM, V. S.; YEN, N. T.; KITTIYAPONG, P.; WEEKS, A. R., Genetic Structure of *Aedes aegypti* in Australia and Vietnam Revealed by Microsatellite and Exon Primed Intron Crossing Markers Suggests Feasibility of Local Control Options. **Journal Medical Entomol**, 46(5): 1074–1083, 2009.

ESTALLO, E. L.; MÁZ, G; VERGARA-CID, C.; LANFRI, M. A.; LUDUEÑA-ALMEIDA, F.; SCAVUZZO, C. M.; INTROINIS, M. V.; ZAIDENBERG, M.; ALMIRÓN, W. R., Spatial Patterns of High *Aedes aegypti* Oviposition Activity in Northwestern Argentina. **PLoS ONE**, 8(1): 2013.

ESTOUP, A.; GARNERY, I.; SOLIGNAC, M.; CORNUET, J. M., Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. **Genetics**, 140: 679-695, 1995.

FORATTINI, O. P., **Culicidologia Médica**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2, 2002.

FERGUSON, H. M.; DORNHAUS, A.; BEECHE, A.; BORGEMEISTER, C.; GOTTLIEB, M.; MULLA, M. S.; GIMNIG, J. E.; FISH, D.; KILEEN, G. F., Ecology: A Prerequisite for Malaria Elimination and Eradication. **PLoS Med**, 7(8): 2010.

FUNASA, **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**, 2001. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde 3ed, Brasília.

GLASSER, C.M.; GOMES, A.C., Infestação do Estado de São Paulo por *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. **Revista Saúde Pública**, 34(6): 570-7, 2000.

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

GORROCHOTEGUI-ESCALANTE, N.; GOMEZ-MACHORRO, C.; LOZANO-FUENTES, S.; FERNANDEZ-SALAS, I.; MUNOZ, M. L.; FARFAN-ALE, J. A.; GARCIA-REJON, J.; BEATY, B. J.; BLACK, W. C., Breeding structure of *Aedes aegypti* populations in Mexico varies by region. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 66(2): 213–222, 2002.

GUBLER, D. J., The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. **Arch. Med. Res.**, 33(4): 330-342, 2002.

HALSTEAD, B. S. Dengue Virus–Mosquito Interactions. **Annu. Rev. Entomol.** 53: 273–91, 2008.

HERRERA, F.; URDANETA, L.; RIVERO, J.; ZOGHBI, N.; RUIZ, J.; CARRASQUEL, G.; MARTÍNEZ, J. A.; PERNALETE, M.; VILLEGAS, P.; MONTOYA, A.; RUBIO-PALIS, Y.; ROJAS, E., Population genetic structure of the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Venezuela. **Mem. Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 101(6): 625-633, 2006.

HONÓRIO, N. A.; SILVA, W. C.; LEITE, P. J.; GONÇALVES, J. M.; LOUNIBOS, L. P.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R., Dispersal of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 98: 191–198, 2003.

HONÓRIO, N. A.; CODEÇO, C. T.; ALVES, F. C.; MAGALHÃES, M.A.F.M.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R., Temporal Distribution of *Aedes aegypti* in Different Districts of Rio De Janeiro, Brazil, Measured by Two Types of Traps. **Journal of Medical Entomology**, 46(5): 1001-1014, 2009.

HUBER, K.; LOAN, L.L.; HOANG, T.H.; TIEN, T.K.; RODDHAIN, F.; FAILLOUX, A., Temporal genetic variation in *Aedes aegypti* populations in Ho Chi Minh city Vietnam, **Heredity**, 89, 7-14, 2002.

HUBER, K.; BA, Y.; DIA, I.; MATHIOT, C.; SALL, A. A.; DIALLO, M., *Aedes aegypti* in Senegal: Genetic Diversity and Genetic Structure of Domestic and Sylvatic Populations. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 79(2): 218–229, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. - <<http://cidades.ibge.gov.br/painel/painel.php?codmun=250400>>, acesso em: 14 de dezembro de 2013.

IHAKA, R.; GENTLEMAN, R., R: A language for data analysis and graphics. **Journal of computational and graphical statistics**, 5(3): 299-314, 1996.

JETTEN, T. H.; FOCKS, D. A. Potencial changes in the distribution of dengue transmission under climate warming. **Am J trop Med Hyd**, 57(3): 285-297, 1997.

KILPATRICK, M.; FONSECA, D. M.; EBEL, G. D.; REDDY, M. R.; KRAMER, L. D., Spatial and Temporal Variation in Vector Competence of *Culex pipiens* and *Cx. restuans* Mosquitoes for West Nile Virus. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 83(3): 607–613, 2010.

LIMA, S. F. A., Variabilidade genética em populações de *Aedes (stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) da Amazônia brasileira, por meio de marcadores microssatélites. **Dissertação** (mestrado) - INPA, Manaus, 2010.

LOPES, R.; LOPES, M. T. G.; FIGUEIRA, A. V. O.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.; CARNEIRO, M. S.; VIEIRA, M. L. C., Marcadores Moleculares Dominantes (Rapl e Aflp). **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, 5 (29): 56-60, 2002.

LOWE, R.; BAILEY, T. C.; STEPHENSON, D. B.; GRAHAM, R. J.; COELHO, C. A. S.; CARVALHO, M. S.; BARCELLOS, C., Spatio-temporal modelling of climate-sensitive disease risk: Towards an early warning system for dengue in Brazil. **Computers & Geosciences**, 37: 371–381, 2011.

MACIEL-DE-FREITAS, R.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R., Presumed unconstrained dispersal of *Aedes aegypti* in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Saúde Pública**, 43(1): 8-12, 2009.

MARTÍN, J. L. S.; BRATHWAITE, O.; ZAMBRANO, B.; SOLÓRZANO, J. O.; BOUCKENOGHE, A.; DAYAN, G. H.; GUZMÁN, G. M., The Epidemiology of Dengue in the Americas Over the Last Three Decades: A Worrisome Reality. **Am. J. Tropical Medicine and Hygiene**, 82(1): 128–135, 2010.

MENDONÇA, F. A.; SOUZA, A. V.; DUTRA, D. A., Saúde pública, urbanização e dengue no Brasil. **Sociedade & Natureza**, (3): 257-269, 2009.

MENDONÇA, B. A. A., Variação genética espacial e temporal de *Aedes (stegomyia) aegypti* (LINNAEUS, 1762) em Manaus-AM, com o emprego de marcadores microssatélites. **Dissertação** (mestrado) - INPA, Manaus, 2010.

MENKSEN, K.; KAHL, G. **Handbook of plant genome mapping**. Weinheim: Wiley, 2005. 1: 403.

MILACH, S. C.K., MARCADORES DE DNA. **Revista Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, 1(5): 14-17, 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Controle da dengue no Brasil**, Estado da Paraíba.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Informe Técnico Institucional; Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. **Revista Saúde Pública**, 44(1): 200-2, 2010.

MISSIAGGIA, A.; GRATTAPAGLIA, D. Plant microsatellite genotyping with 4-color fluorescent detection using multi-tailed primers. **Genet. Molec. Res.**, 5(1): 72-78, 2006.

MITCHELL, S. N.; STEVENSON, B. J.; MÜLLER, P.; WILDING, C. S.; EGYIR-YAWSON, A.; FIELD, S. G.; HEMINGWAY, J.; PAINE, M. J. I.; RANSON, H.; DONNELLY, M. J., Identification and validation of a gene causing cross-resistance between insecticide classes in *Anopheles gambiae* from Ghana. **PNAS**, 109(16): 6147–6152, 2012

MIYAZAKI, R. D.; RIBEIRO, M. L. A.; PIGNATTI, M. G.; CAMPELO-JÚNIOR, J. H.; PIGNATI, M., Monitoramento do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae), por meio de ovitrampas no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 42(4): 392-397, 2009.

MOUSSON, L.; VAZEILLE, M. CHAWPROM, S.; PRAJAKWONG, S.; RODHAIN, F.; FAILLOUX, A-B., Genetic structure of *Aedes aegypti* populations in Chiang Mai (Thailand) and relation with dengue transmission. **Tropical Medicine and International Health**, 7(10): 865–872, 2002.

NASCI, R.S., Influence of larval and adult nutrition on biting persistence in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal Medical Entomology**. 28(4):522-6, 1991.

PAUPY, C.; CHANTHA, N.; VAZEILLE, M.; REYNES, J-M.; RODHAIN, F.; FAILLOUX, A-B., Variation over space and time of *Aedes aegypti* in Phnom Penh (Cambodia): genetic structure and oral susceptibility to a dengue virus. **Genet. Res**, 82: 171–182, 2003.

PAUPY, C.; CHANTHA, N.; REYNES, J-M.; FAILLOUX A-B., Factors influencing the population structure of *Aedes aegypti* from the main cities in Cambodia. **Heredity**, 95: 144–147, 2005.

PAUPY, C., BRENGUES, C., NDIATHC, O., TOTYB, C., HERVÉB, J. P.; SIMARD, F., Morphological and genetic variability within *Aedes aegypti* in Niakhar, Senegal. **Infection, Genetics and Evolution**, 10: 473-480, 2010.

PEAKALL R. AND SMOUSE P.E., GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. **Bioinformatics**, 28: 2537-2539, 2012.

PINTO, L. R.; VIEIRA, M. L. C.; SOUZA, A. P.; JUNIOR, C. L. S., Isoenzimas e microssatélites em plantas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, 20: 16-19, 2001.

PRITCHARD J.K., STEPHENS M., DONNELLY P., Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, 155: 945–959, 2000.

RASCALOU, G.; PONTIER, D.; MENU, F.; GOUBIÈRE, S., Emergence and Prevalence of Human Vector-Borne Diseases in Sink Vector Populations. **PLoS ONE**, 7(5): 2012.

RAVEL, S.; HERVE, J. P.; DIARRASSOUBA, S.; KONE, A.; CUNY, G., Microsatellite markers for population genetic studies in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Côte d'Ivoire: evidence for a microgeographic genetic differentiation of mosquitoes from Bouaké. **Acta Tropica** 82: 39–49, 2002.

RÍOS-VELÁSQUEZ, C. M.; CODEÇO, C. T.; HONÓRIO, N. A.; SABROZA, P. S.; MORESCO, M.; CUNHA, I. V. C. L.; LEVINO, A.; TOLEDO, L. M.; LUZ, S. L. B., Distribution of dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 102(5): 617-623, 2007.

SABATINI, G. Técnicas moleculares no diagnóstico da resistência. **Biológico**, 65(1): 29-32, 2003.

SANTOS, V. M.; MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; AVILA, P. E.; KIRCHGATTER, K. , Analysis of genetic relatedness between populations of *Aedes aegypti* from different geographic regions of São Paulo state, Brazil. **Rev. Instituto Medicina Topical**, 45(2): 99-101, 2003.

SECRETARIA DA SAÚDE/PB, Dengue, **Boletim epidemiológico**, 05, 2013.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE/MS, Análise da situação da dengue e do programa de controle da dengue no Brasil. **Saúde Brasil**, 755-779, 2005.

SERPA, L. L. N.; COSTA, K. V. R. M.; VOLTOLINO, J. C.; KAKITANI, I., Variação sazonal de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no município de Potim, São Paulo, **Rev Saúde Pública**, 2006.

SILVA, E. B.; NOBREGA, P. R. C., Dengue: reflexões sobre a incidência da doença no município de Palmares, Pernambuco no pós-enchente (2010,2011). **Manag Prim Health Care**, 3(2): 106-113, 2012.

SLOTMAN, M. A.; KELLY, N. B.; HARRINGTON, L. C.; KITTHAWEE, S.; JONES, J. W.; SCOTT, T. W.; CACCONE, A.; POWELL, J. R., Polymorphic microsatellite markers for studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), the vector of dengue and yellow fever. **Molecular Ecology Notes**, 7: 168-171, 2007.

SPENASSATTO, C., Desenvolvimento de metodologia *high-throughput* para estudo populacional do mosquito *Aedes aegypti* e comparação de dados de genes nucleares com dados de genes mitocondriais. **Dissertação** (mestrado) – Instituto de Biociência Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011.

TAUIL, P. L., Urbanização e ecologia do dengue. *Caderno de Saúde Pública*, 17(Suplemento): 99-102, 2001.

TAUIL, P. L., Perspectivas de controle de doenças transmitidas por vetores no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 39(3): 275-277, 2006.

TEIXEIRA, M. da G., BARRETO, M. L.; COSTA, M. C. N.; FERREIRA, L. D. A., VASCONCELOS, P. F. C., Avaliação de impacto de ações de combate ao *Aedes aegypti* na cidade de Salvador, Bahia. **Rev. Bras. Epidemiol.** 5(1): 108, 2002.

VEZENEGHO, S. B.; BASS, C.; PUINEAN, M.; WILLIAMSON, M. S.; FIELD, L. M.; COETZEE, M.; KOEKEMOER, L. L., Development of multiplex real-time PCR assays for identification of members of the *Anopheles funestus* species group. **Malaria Journal**, 8:282, 2009.

VEZZANI, D.; CARBAJO, A. E., *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and dengue in Argentina: current knowledge and future directions, **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 103(1): 66-74, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. **WHO press**, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. **First WHO report on neglected tropical diseases**, 41-47, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Accelerating work to overcome the global impact of neglected tropical diseases. **A roadmap for implementation**, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases. **Second WHO report on neglected tropical diseases**, 3-29, 2013.

Wright S., The genetical structure of populations. **Annual Eugenics**, 15: 223-354, 1951

YAKOB, L.; ALPHEY, L.; BONSALL, M.B., *Aedes aegypti* control: the concomitant role of competition, space and transgenic technologies. **J Appl Ecol**, 45: 1258–1265, 2008.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Índice de diversidade genética de populações de *Aedes aegypti* dos bairros do Catolé e José Pinheiro por ponto de coleta, no período seco e chuvoso, obtidos através de três locos microssatélites.

Bairro-Ponto	Locos	N	Na	Ne	Ho	He	uHe	F
C-A S	A1	9	3,000	2,051	0,333	0,512	0,542	0,349
	AC2	9	2,000	1,246	0,000	0,198	0,209	1,000
	CT2	10	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	Média	9,333	2,000	1,432	0,111	0,237	0,251	0,675
	SE	0,333	0,577	0,317	0,111	0,149	0,158	0,266
C-B S	A1	7	2,000	1,153	0,143	0,133	0,143	-0,077
	AC2	7	2,000	1,849	0,714	0,459	0,495	-0,556
	CT2	7	2,000	1,960	0,857	0,490	0,527	-0,750
	Média	7,000	2,000	1,654	0,571	0,361	0,388	-0,461
	SE	0,000	0,000	0,253	0,218	0,114	0,123	0,200
C-C S	A1	6	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	AC2	5	2,000	1,220	0,200	0,180	0,200	-0,111
	CT2	6	2,000	1,600	0,500	0,375	0,409	-0,333
	Média	5,667	1,667	1,273	0,233	0,185	0,203	-0,222
	SE	0,333	0,333	0,175	0,145	0,108	0,118	0,091
C-D S	A1	5	2,000	1,220	0,200	0,180	0,200	-0,111
	AC2	8	2,000	1,133	0,125	0,117	0,125	-0,067
	CT2	10	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	Média	7,667	1,667	1,117	0,108	0,099	0,108	-0,089
	SE	1,453	0,333	0,064	0,058	0,053	0,058	0,018
C-E S	A1	5	3,000	2,381	0,800	0,580	0,644	-0,379
	AC2	6	3,000	2,880	0,833	0,653	0,712	-0,277
	CT2	10	2,000	1,105	0,100	0,095	0,100	-0,053
	Média	7,000	2,667	2,122	0,578	0,443	0,486	-0,236
	SE	1,528	0,333	0,529	0,239	0,175	0,194	0,096
J-A S	A1	8	3,000	2,246	0,625	0,555	0,592	-0,127
	AC2	6	2,000	1,180	0,167	0,153	0,167	-0,091
	CT2	9	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	Média	7,667	2,000	1,475	0,264	0,236	0,253	-0,109
	SE	0,882	0,577	0,389	0,187	0,165	0,176	0,015
J-B S	A1	7	2,000	1,849	0,429	0,459	0,495	0,067
	AC2	6	2,000	1,180	0,167	0,153	0,167	-0,091
	CT2	10	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	Média	7,667	1,667	1,343	0,198	0,204	0,220	-0,012
	SE	1,202	0,333	0,258	0,125	0,135	0,145	0,064
J-C S	A1	5	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	AC2	6	3,000	2,880	0,667	0,653	0,712	-0,021

	CT2	7	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	Média	6,000	1,667	1,627	0,222	0,218	0,237	-0,021
	SE	0,577	0,667	0,627	0,222	0,218	0,237	0,237
J-D S	A1	8	3,000	1,662	0,125	0,398	0,425	0,686
	AC2	9	3,000	2,418	1,000	0,586	0,621	-0,705
	CT2	10	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	Média	9,000	2,333	1,693	0,375	0,328	0,349	-0,009
	SE	0,577	0,667	0,410	0,315	0,173	0,183	0,568
J-E S	A1	6	3,000	2,000	0,333	0,500	0,545	0,333
	AC2	5	2,000	1,923	0,400	0,480	0,533	0,167
	CT2	10	2,000	1,342	0,300	0,255	0,268	-0,176
	Média	7,000	2,333	1,755	0,344	0,412	0,449	0,108
	SE	1,528	0,333	0,208	0,029	0,079	0,090	0,150
C-A C	A1	8	3,000	2,133	0,250	0,531	0,567	0,529
	AC2	4	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	CT2	5	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	Média	5,667	1,667	1,378	0,083	0,177	0,189	0,529
	SE	1,202	0,667	0,378	0,083	0,177	0,189	0,189
C-B C	A1	6	2,000	1,180	0,167	0,153	0,167	-0,091
	AC2	4	2,000	1,600	0,500	0,375	0,429	-0,333
	CT2	6	2,000	1,385	0,333	0,278	0,303	-0,200
	Média	5,333	2,000	1,388	0,333	0,269	0,299	-0,208
	SE	0,667	0,000	0,121	0,096	0,064	0,076	0,070
C-C C	A1	7	3,000	2,178	0,571	0,541	0,582	-0,057
	AC2	6	3,000	1,674	0,333	0,403	0,439	0,172
	CT2	6	2,000	1,600	0,167	0,375	0,409	0,556
	Média	6,333	2,667	1,817	0,357	0,440	0,477	0,224
	SE	0,333	0,333	0,181	0,117	0,051	0,053	0,179
C-D C	A1	6	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	AC2	5	2,000	1,724	0,200	0,420	0,467	0,524
	CT2	8	2,000	1,882	0,250	0,469	0,500	0,467
	Média	6,333	1,667	1,535	0,150	0,296	0,322	0,495
	SE	0,882	0,333	0,272	0,076	0,149	0,161	0,023
C-E C	A1	8	2,000	1,600	0,500	0,375	0,400	-0,333
	AC2	5	2,000	1,471	0,400	0,320	0,356	-0,250
	CT2	9	2,000	1,246	0,222	0,198	0,209	-0,125
	Média	7,333	2,000	1,439	0,374	0,298	0,322	-0,236
	SE	1,202	0,000	0,103	0,081	0,052	0,058	0,061
J-A C	A1	5	3,000	1,852	0,400	0,460	0,511	0,130
	AC2	9	2,000	1,385	0,111	0,278	0,294	0,600
	CT2	9	2,000	1,528	0,444	0,346	0,366	-0,286
	Média	7,667	2,333	1,588	0,319	0,361	0,390	0,148
	SE	1,333	0,333	0,138	0,104	0,053	0,064	0,256
J-B C	A1	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	--

	AC2	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	--
	CT2	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	--
	Média	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	--
	SE	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
J-C C	A1	8	4,000	2,286	0,250	0,563	0,600	0,556
	AC2	6	3,000	2,571	0,000	0,611	0,667	1,000
	CT2	10	3,000	2,062	0,400	0,515	0,542	0,223
	Média	8,000	3,333	2,306	0,217	0,563	0,603	0,593
	SE	1,155	0,333	0,147	0,117	0,028	0,036	0,225
J-D C	A1	5	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	N/D
	AC2	7	2,000	1,960	0,000	0,490	0,527	1,000
	CT2	5	2,000	2,000	0,200	0,500	0,556	0,600
	Média	5,667	1,667	1,653	0,067	0,330	0,361	0,800
	SE	0,667	0,333	0,327	0,067	0,165	0,181	0,163
J-E C	A1	7	3,000	1,342	0,286	0,255	0,275	-0,120
	AC2	6	3,000	1,946	0,333	0,486	0,530	0,314
	CT2	6	2,000	1,800	0,333	0,444	0,485	0,250
	Média	6,333	2,667	1,696	0,317	0,395	0,430	0,148
	SE	0,333	0,333	0,182	0,016	0,071	0,079	0,135

Para bairro: C = Catolé, J = José Pinheiro; pontos de coleta: A, B, C, D, E; período: S=seco, C=chuvoso. SE = desvio padrão; N = Número de indivíduos; Na = Número de alelos; Ne = Número de alelos efetivos; Ho = Heterozigosidade observada; He = Heterozigosidade esperada; UHe = Heterozigosidade imparcial; F = Índice de fixação.