

**Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo**  
**Centro de Formação de Recursos Humanos para o SUS/SP**  
**“Dr. Antônio Guilherme De Souza”**  
**Instituto Butantan**

**GEOMETRIA ALAR COMO ESTIMADOR DE VARIABILIDADE  
MORFOGENÉTICA DE AEDES ALBOPICTUS (CULICIDAE) DO ESTADO DE  
SÃO PAULO**

**LUANA ALMEIDA FERREIRA**

**SÃO PAULO**

**2019**

LUANA ALMEIDA FERREIRA

**Geometria alar como estimador de variabilidade morfogenética de *Aedes albopictus* (Culicidae) do Estado de São Paulo**

Monografia de Conclusão do Curso de Especialização Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal do Instituto Butantan, sob orientação do Prof. Dr. Lincoln Suesdek.

SÃO PAULO

2019

Dados internacionais de catalogação-na-publicação

Ferreira, Luana Almeida

Geometria alar como estimador de variabilidade morfogenética de *Aedes albopictus* (*Culicidae*) do Estado de São Paulo / Luana Almeida Ferreira ; orientador Lincoln Suesdek. – São Paulo, 2019.

30 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Secretaria de Estado Saúde, Centro de Formação de Recursos Humanos para o SUS/SP “Doutor Antônio Guilherme de Souza” elaborado no Instituto Butantan para o Curso de Especialização em Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal, 2019.

1. Morfometria geométrica. 2. *Aedes albopictus*. 3. Índice MD. 4. Diversidade morfológica. I. Suesdek, Lincoln. II. Instituto Butantan. III. Título.

## AUTORIZAÇÃO PARA REPRODUÇÃO DE TRABALHO

Eu, Luana Almeida Ferrero, aluno(a) do curso Especialização em Animais de Interesse em Saúde: Biologia Animal do Programa de Aprimoramento Profissional - PAP, autorizo a divulgação do meu Trabalho de conclusão de curso por mídia impressa eletrônica ou qualquer outra, assim como a reprodução total deste Trabalho de conclusão de curso após publicação, para fins acadêmicos desde que citada a fonte.

Prazo de liberação da divulgação do Trabalho de conclusão de curso após a data da avaliação:

Imediato

06 meses

12 meses

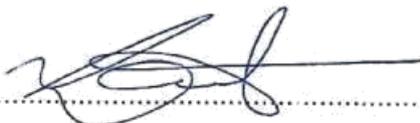
Não autorizo a divulgação

Justifique:

São Paulo, 15 de fevereiro de 2019

Luana A. Ferrero  
aluno(a)

De acordo:.....  
Orientador(a):



Dr. Lincoln Suesdek  
Instituto Butantan  
PqC.

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Lincoln Suesdek, pela orientação dedicada e paciente oferecida ao longo dos meses em que desenvolvi esse trabalho, além das conversas e discussões enriquecedoras que fomentou no Laboratório.

Às meninas do Laboratório, Fernanda, Laísa, Marília, Livia e Karina, pela companhia no almoço e a ajuda que me foi concedida por elas quando solicitei.

Aos meus colegas de PAP, Igor, Fernanda, Lúdia, Mariana e Suzanne, pelas conversas e pelos piqueniques que ajudavam a amenizar as “*bad vibes*” e por me mostrarem a tempo, que tudo bem pedir ajuda de vez em quando.

A Flávia, que me deu seu *help* com as fotos das asas e com programas rudimentares.

Ao programa de especialização em Biologia Animal do Instituto Butantan.

E também àqueles que possam ter ajudado de maneira indireta na realização desse trabalho.

AGRADECIDA

*“Because a kitchen sink to you is not a kitchen sink to me. Okay friend?”*

*TWENTY ONE PILOTS*

## RESUMO

**Ferreira, L. A. Geometria alar como estimador da variabilidade morfogenética de *Aedes albopictus* (Culicidae) do Estado de São Paulo. [Trabalho de Conclusão de Curso]. São Paulo: Instituto Butantan/CEFOP; 2019.**

*Aedes albopictus* é um importante vetor de agentes etiológicos de doenças como dengue, febre amarela e chikungunya responsáveis por epidemias e surtos. A alta capacidade de colonização e adaptação a diferentes ambientes desta espécie a torna relevante para estudos epidemiológicos. A alta variabilidade genética populacional é uma característica em mosquitos vetores, pois resulta em rápida microevolução, adaptabilidade ao ambiente humano, resistência a inseticidas e em outros fenômenos que dificultam sobremaneira o controle desses vetores. Como a variabilidade genética tem de ser investigada por abordagens moleculares, as quais são caras e demoradas, propusemos recentemente uma forma alternativa de estimar essa variabilidade: o índice “MD” (*morphological diversity*). Este índice utiliza geometria para descrever quantitativamente o grau de diversidade morfológica de amostras populacionais. O MD quando calculado a partir de estruturas morfológicas cujo fenótipo é herdável, pode guardar parcial correlação com a variabilidade genética. Diante dessa presumível correlação, é razoável utilizar o MD como um prático substituto preliminar dos índices tradicionais de variabilidade genética (riqueza alélica, diversidade genotípica, etc.). Neste trabalho nos propusemos a comparar quanto à diversidade morfológica, cinco populações de *Aedes albopictus* provenientes de quatro municípios do Estado de São Paulo (Campinas, Cotia, Santos e São Paulo). Hipotetizamos que (I) as populações teriam variabilidades morfológicas diferentes devido às distintas histórias microevolutivas. Em outra hipótese (II), o maior MD seria encontrado na amostra de Santos, localidade de provável entrada de indivíduos *Ae. albopictus* exóticos provenientes de seus locais nativos da Ásia. O MD foi obtido a partir de dados morfométricos das asas dos indivíduos, estrutura de forma herdável e de herança poligênica. As asas foram submetidas a métodos-padrão de morfometria geométrica, incluindo-se a sobreposição de Procrustes e a análise de formas de 18 pontos de referência. Os componentes principais das variáveis de forma de todos os indivíduos amostrados foram plotados em gráficos bidimensionais denominados "morfoespaço", nos quais podemos observar o grau de dispersão relativa entre os indivíduos, permitindo o cálculo do tamanho do centroide do conjunto de indivíduos. Em teoria, quanto maior o centroide, mais dispersos são os pontos e mais diversificada é a população morfologicamente. O MD revelou que a população de Cotia foi a mais diversa, contrariando a hipótese II. Entretanto, a hipótese I foi confirmada, já que o índice MD apontou para distintas magnitudes de diferenciação morfológica entre as populações, validando a morfometria geométrica como método capaz de distinguir populações geográficas.

**Palavras-chave:** Morfometria geométrica. Culicidae. Índice MD. Diversidade morfológica.

## ABSTRACT

**Ferreira, L. A. Wing geometry as an estimator of the morpho-genetic variability of *Aedes albopictus*. [Undergraduate thesis]. São Paulo: Instituto Butantan/CEFOR; 2019.**

*Aedes albopictus* is an important vector of etiological agents of diseases such as dengue, yellow fever and chikungunya responsible for epidemics and outbreaks. The high capacity of colonization and adaptation to different environments of this species makes it relevant for epidemiological studies. The high population genetic variability is a characteristic in mosquito vectors, since it results in rapid microevolution, adaptability to the human environment, resistance to insecticides and in other phenomena that greatly complicate the control of these vectors. As genetic variability has to be investigated by molecular approaches, which are expensive and time-consuming, we recently proposed an alternative way of estimating this variability: the "MD" (morphological diversity) index. This index uses geometry to quantitatively describe the degree of morphological diversity of population samples. The MD when calculated from morphological structures whose phenotype is inheritable, may retain partial correlation with genetic variability. Faced with this presumed correlation, it is reasonable to use MD as a practical preliminary substitute for traditional indexes of genetic variability (allelic richness, genotypic diversity, etc.). In this work we propose to compare the morphological diversity of five *Aedes albopictus* populations from four municipalities in the State of São Paulo (Campinas, Cotia, Santos and São Paulo). We hypothesized that populations would have different morphological variabilities due to different microevolutionary histories. In another hypothesis, the largest MD would be found in the sample of Santos, location of probable entry of exotic *Ae. albopictus* from their native Asian locations. The MD was obtained from morphometric data of the individuals wings, a heritable structure and a polygenic inheritance. The wings were submitted to standard methods of geometric morphometrics, including Procrustes overlapping and analysis of 18-point reference shapes. The main components of the shape variables of all the individuals sampled were plotted in two-dimensional graphs called "morpho-space", in which we can observe the degree of relative dispersion among the individuals, allowing the calculation of the centroid size of the set of individuals. In theory, the larger the centroid, the more scattered the points are and the more morphologically diverse the population is. The MD revealed that the population of Cotia was the most diverse, contradicting hypothesis II. However, it was a confirmed hypothesis, since the MD index pointed out differences in magnitudes of morphological differentiation between populations, validating a geometric morphometrics as a method capable of distinguishing geographic ones.

**Keywords:** Geometric morphometrics. Culicidae. MD index. Morphological diversity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Cidades em que foram realizadas as coletas de <i>Aedes albopictus</i> .....	15
<b>Figura 2.</b> Asa esquerda de <i>Ae. albopictus</i> com as 18 <i>landmarks</i> .....	16
<b>Figura 3.</b> Identificação <i>outliers</i> .....	17
<b>Figura 4.</b> Gráfico bidimensional de dispersão das fêmeas no morfoespaço.....	19
<b>Figura 5.</b> Gráfico bidimensional de dispersão dos machos no morfoespaço .....	19
<b>Figura 6.</b> Gráfico de barras representando índice MD de fêmeas de <i>Ae. albopictus</i> .....	20
<b>Figura 7.</b> Gráfico de barras representando índice MD de machos de <i>Ae. albopictus</i> .....	20
<b>Figura 8.</b> Gráfico de barras ilustrando o MD de machos e fêmeas de <i>Ae. albopictus</i> .....	21

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. OBJETIVOS .....	14
2.1 Objetivo geral .....	14
2.2 Objetivos específicos .....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	18
5. CONCLUSÕES .....	24
REFERÊNCIAS .....	25

## 1. INTRODUÇÃO

*Aedes albopictus* é um culicídeo já registrado como uma das 100 espécies mais invasivas do mundo (LOWE et al., 2004) devido a sua alta capacidade de adaptar-se a ambientes diversos, conferida não só por sua ambientação a baixas temperaturas (HANSON AND CRAIG, 1994; ROMI et al., 2006), como também devido à rápida dispersão baseada na oferta de sítios de oviposição e não na distância que a espécie é capaz de percorrer (FORATTINI, 2002; LOUNIBOS, 2002; FANTINATTI et al., 2007; MARINI et al., 2010). Aclimatado à área silvestre e urbana (ALBUQUERQUE et al., 2000, MARQUES et al., 2001; URBINATTI, 2007) *Ae. albopictus* colonizou todos os continentes, exceto a Antártica (CAMINADE et al., 2012; KRAEMER et al., 2015). Sendo seu ecletismo ecológico, outro fator favorável ao seu sucesso adaptativo, ao permitir a exploração desde biótopos naturais como os internódios de bambu, ocos de árvore e cascas de frutas (FORATTINI, 1986; GOMES & MARQUES, 1988; NATAL et al., 1997; SANTOS & NASCIMENTO, 1998; LOZOVEI, 2001) até sítios artificiais, gerados durante atividade humana; entulho, veículos abandonados, recipientes plásticos (FORATTINI et al., 1998; CALADO & NAVARRO-SILVA, 2002).

Nativo das florestas tropicais e subtropicais do Sudeste asiático (HAWLEY, 1988; FORATTINI, 2002; KRAEMER et al., 2015), o Tigre asiático como é vulgarmente conhecido, foi registrado no Brasil pela primeira vez no Estado do Rio de Janeiro, em 1986 (FORATTINI, 1986), tendo a presença confirmada no mesmo ano também para São Paulo e Minas Gerais (BURALI et al., 1991). Sua introdução assim como a de outras espécies invasoras se deu por meio de atividade humana, como o comércio de pneus, que seria responsável pelo transporte de ovos de *Ae. albopictus* (REITER & SPRENGER, 1987; CRAVEN et al., 1988).

Sua ampla e vertiginosa disseminação atrelada a seu elevado potencial vetorial para diversas arboviroses (MITCHELL et al., 1992; GERHARDT et al., 2001; FERNÁNDEZ et al., 2004; DELATTE et al., 2008; GRARD et al., 2014; PAUPY et al., 2009; WONG et al., 2013), como Dengue, Febre Amarela, Zika e Chikungunya faz desse mosquito uma espécie tão importante epidemiologicamente quanto as demais integrantes do subgênero, segundo de maior importância para a saúde pública diante da gama de espécies aptas a transmitir agentes

patogênicos (FORATTINI, 2002; DE LAMBALLERIE et al., 2008; MEDLOCK, et al., 2012; GARDNER et al., 2016; NEVES, 2016).

Diante de um cenário no qual erradicar *Ae. albopictus* é praticamente inviável, uma vez que já estabelecido (POWELL & TABACHNICK, 2013; UNLU et al., 2013, 2014), a pluralidade ecológica dessa espécie a torna um vetor potencial quando se trata dos ciclos silvestre e urbano da febre amarela, que diferente dos vetores silvestres (*Haemagogus leucocelaenus* e *Sabethes albiprivus*), não tem seus hábitos restritos ao ambiente silvático (COUTO-LIMA et al., 2017). Estudos no campo da genética de populações, que ocupa-se da distribuição da variação genética no espaço e no tempo (TEMPLETON, 2011; VIDAL et al., 2012a) ganham relevância, pois ao acompanhar a dinâmica populacional e o fluxo gênico dessa espécie, é possível antecipar riscos e elaborar possíveis mecanismos de controle (GOUBERT et al., 2016). O que pode ser feito por diversas ferramentas, entre elas a morfometria geométrica ou análise estatística das formas (FORNEL & ESTRELA, 2012), técnica que ganhou notoriedade no início dos anos 1990, com o desenvolvimento de programas para computadores.

Monteiro e Reis (1999) assinalam que a morfometria geométrica permite determinar e identificar eventos imperceptíveis visualmente e aos testes matemáticos geralmente aplicados, usando de formas biológicas e de coordenadas cartesianas denominadas *landmarks* (MONTEIRO & REIS, 1999) traçadas sobre essa estrutura, a morfometria geométrica mensura e fornece informações para inferência dos motivos responsáveis por formas variantes (BOOKSTEIN, 1997; MONTEIRO & REIS, 1999; BOMFIM et al., 2008).

Em Culicidae as asas têm sido usadas com sucesso na análise de divergências morfológicas (JIRAKANJANAKIT et al., 2008; HENRY et al., 2010; DEVICARI et al., 2011; VIDAL et al., 2011; LOUISE et al., 2015; VIRGINIO et al., 2015; CHRISTE et al., 2016) diante de sua conformação praticamente bidimensional e das suas veias possuírem junções que oferecem marcos adequados para o emprego de morfometria (VILLEGAS et al., 2002). Além disso, as asas são uma estrutura passível de evolução (DUJARDIN et al., 2008a; JIRAKANJANAKIT et al., 2008; VIDAL et al., 2012a), dado o estresse ambiental que sofrem e como esse pode agir sobre a aptidão de voo e nos sons alares emitidos durante a corte pré-cópula (BROGDON, 1994). A geometria da asa pode acabar por influenciar ainda na fecundidade e indiretamente na própria diversidade genética desses mosquitos (TRPIS & HAUSERMANN, 1986; KLEMPNER et al., 2007). Ademais, a análise morfométrica

geométrica é capaz de constatar alterações fenotípicas, quiçá genotípicas (VIDAL et al., 2012b; LORENZ et al., 2017; SUESDEK, 2019) por um baixo custo.

Apesar de Louise et al. (2015) terem observado que a morfometria geométrica apresenta prognóstico que destoia em partes do proposto por marcadores genéticos, a morfometria geométrica ainda sim foi capaz de apontar variações morfológicas no período disposto naquele trabalho, demonstrando seu potencial para realizar estudos preliminares quanto a situação morfogenética populacional de *Ae. albopictus*. Ainda considerando isso e que avaliar a variabilidade genética é um processo geralmente dispendioso, uma maneira alternativa de estimar essa variabilidade seria por meio da “diversidade morfológica” (índice MD). Índice que teoricamente quantificaria o grau de diferenciação morfológica e teria certa correlação com o grau de diferenciação genética da população em questão. Propomo-nos neste trabalho a investigar a cerca da diversidade morfológica de cinco populações de *Aedes albopictus* provenientes de quatro municípios do Estado de São Paulo (São Paulo, Santos, Campinas, Cotia). Partindo do pressuposto de que as populações possuiriam variabilidades morfológicas diferentes acarretadas por suas distintas histórias microevolutivas e também de que o maior MD seria encontrado na amostra de Santos, localidade de provável entrada de indivíduos *Ae. albopictus* exóticos provenientes de seus locais nativos da Ásia.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral:

- Verificar possível diferenciação interpopulacional em *Aedes albopictus* quanto à morfologia alar.

### 2.2 Objetivos específicos:

- Analisar a existência de estruturação populacional de *Aedes albopictus* dos municípios

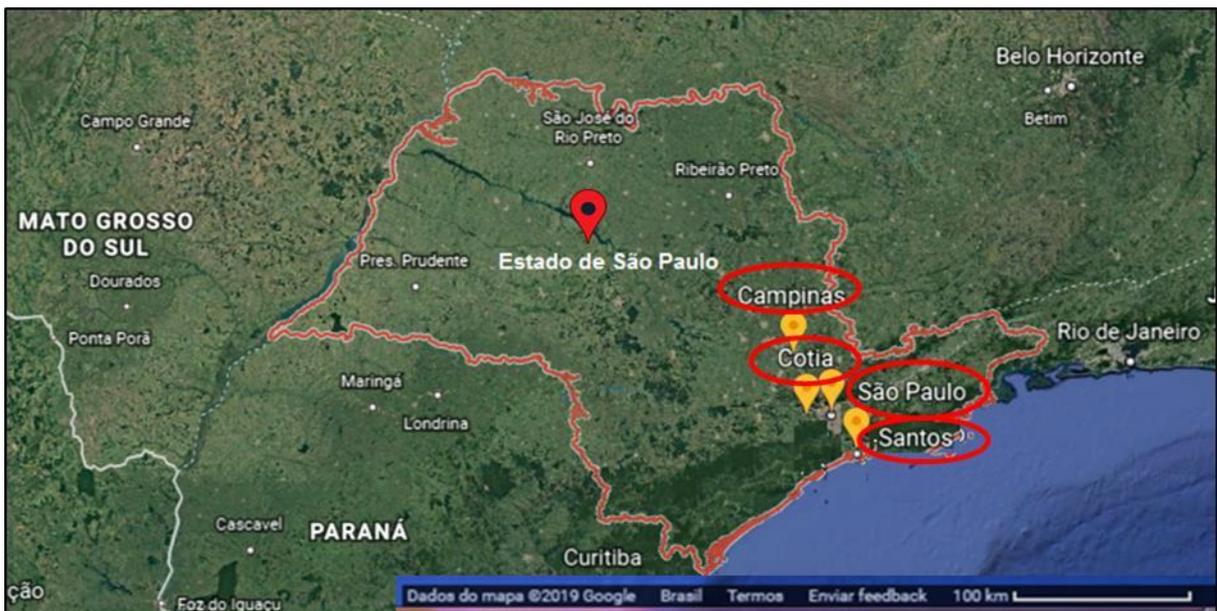
paulistas de Campinas, Cotia, Santos e São Paulo por meio da diversidade morfológica alar inter/intrapopulacional e teste  $Q_{st}$ .

- Quantificar comparativamente a possível diversidade morfológica existente nessas populações por meio dos componentes principais de forma alar.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 247 imagens de um total de 299 (Tabela 1) de asas de fêmeas e machos de *Ae. albopictus*. Das quais as de São Paulo, Santos e Campinas (Figura 1) estão depositadas no banco de dados WingBank (<http://www.wingbank.butantan.gov.br>) e já foram objeto de estudos morfométricos anteriores de Vidal et al. (2012a) e Virginio et al. (2015) cujos propósitos foram distintos do presente trabalho. Enquanto as asas que compõem a amostra populacional de Cotia, corresponde a fêmeas mantidas em álcool, das quais foram destacadas ambas as asas e foram montadas de acordo com o descrito por Vidal et al. (2012a) e então fotografadas por uma câmera digital Leica DFC320 conectada a um microscópio estereoscópico Leica S6 com ampliação de 40x.

FIGURA 1. Imagem de satélite da localização do Estado de São Paulo, contorno em vermelho em que se destaca por círculos na mesma cor os municípios de Campinas, Cotia, São Paulo e Santos, dos quais são provenientes as amostras de *Ae. albopictus*.



Fonte: Adaptado do Google Maps (2019).

Reunidas as imagens, obteve-se por meio do TpsDig versão 1.4 (ROHLF, 2006) as coordenadas das 18 *landmarks* em cada uma (Figura 2). Sobre as quais foram computados os Componentes Principais (CPs) e tamanho dos centróides com auxílio dos programas TpsUtil 1.76 (ROHLF, 2018), TpsRelw 1.11 (ROHLF, 2017) e MorphoJ 1.06 (KLINGENBERG, 2011) com o intuito de obter e comparar o índice de diversidade morfológica (índice MD), definido por Lorenz et al. (2017) em relação a dispersão dos indivíduos no morfoespaço como descrito em Petersen (2015), uma vez que essa reproduziria à variabilidade genética e/ou morfológica (VIDAL, 2015). Para diminuir as chances de os resultados serem enviesados por

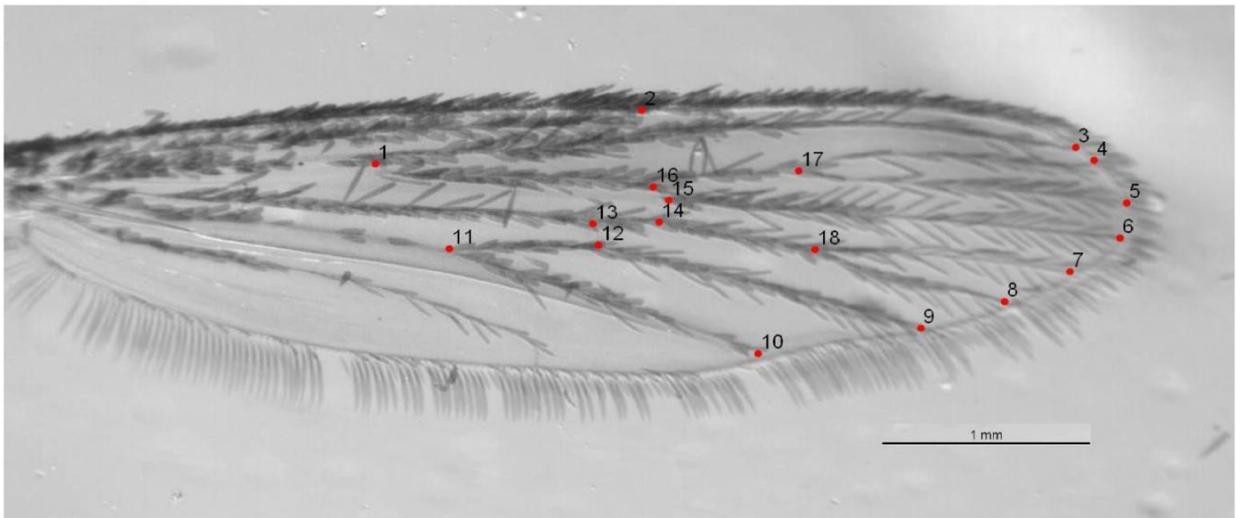
*outliers*, foram amostrados indivíduos que se mantivessem dentro de um intervalo de confiança de 95%, definido a partir do traçado de elipses respeitando esse critério em torno dos representantes de cada população (Figura 3). Pela mesma razão, a análise de fêmeas e machos foi feita separadamente diante do dimorfismo sexual existente entre os sexos.

**TABELA 1** – Local e ano de coleta de *Aedes albopictus*. \* Imagens já utilizadas em estudos anteriores.

F – fêmeas / M – machos

Procedência	Coordenadas geográficas	Sigla	Sexo	Nº de espécimes	Ano de coleta
São Paulo*	23°33'57.6"S 46°47'24.0"W	SPA/2008	F/M	28/0	2008
São Paulo*	23°33'57.6"S 46°47'24.0"W	SPA/2009	F/M	41/35	2009
Cotia	23°36'00.0"S 46°55'120"W	COT	F/M	36/16	2010
Campinas*	22°54'21.3"S 47°57'56.5"W	CAM	F/M	39/25	2011
Santos	23°56'13"S 46°19'30.34"W	SAN	F/M	39/40	2011

FIGURA 2. Asa esquerda de *Ae. albopictus* com as 18 *landmarks* selecionadas para coleta de coordenadas posicionais de forma.



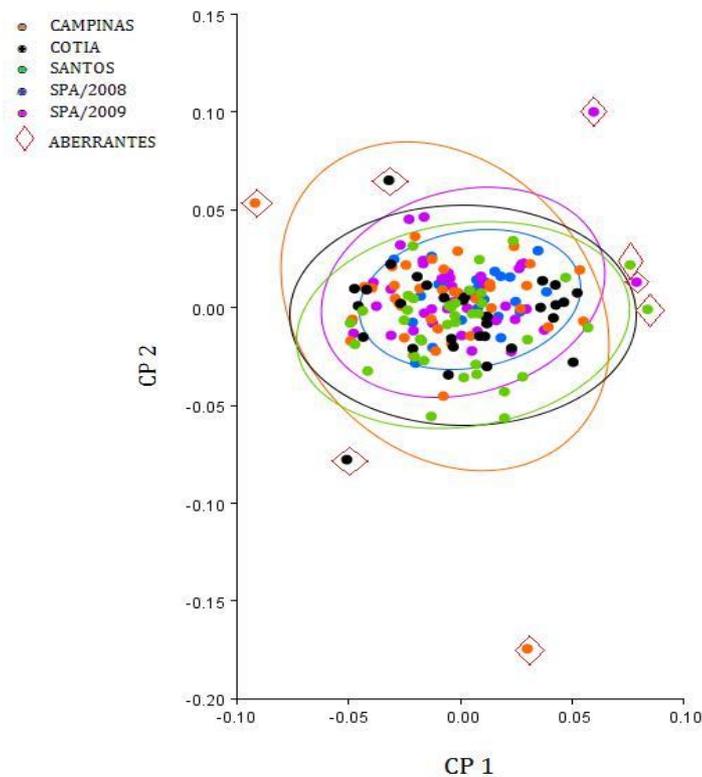
Fonte: A Autora.

Além dos gráficos obtidos com o uso dos programas Morpho J (KLINGENBERG, 2011) e R (R CORE TEAM, 2013) as coordenadas de cada população obtidas anteriormente permitiram o cálculo do  $Q_{st}$ , um estimador quantitativo de variabilidade morfológica análogo ao  $F_{st}$  genético (DUJARDIN, 2008b; LORENZ et al, 2017), para quantificar a variância morfológica entre os grupos, usando da ferramenta COV (DUJARDIN, 2017).

As análises foram feitas somente com a asa esquerda, salvo as do grupo de Campinas, devido à disponibilidade em que se usou da asa direita.

As amostras populacionais SPA/2008, SPA/2009, COT, CAM e SAN (Tabela 1) foram comparadas quanto aos índices MD para teste das hipóteses postuladas: I) diversidade morfológica “diferente entre as populações”; e II) amostra SAN “mais diversa que as demais”. A inclusão de duas amostras de São Paulo permitiu também avaliar se a MD poderia variar com o tempo.

FIGURA 3. Gráfico bidimensional de dispersão dos indivíduos no morfoespaço feito a partir das 18 *landmarks* das asas (valores de CP1 no eixo X, valores de CP2 no eixo Y), em que os *outliers* estão destacados pelos triângulos por estarem fora das elipses de 95% de confiança.



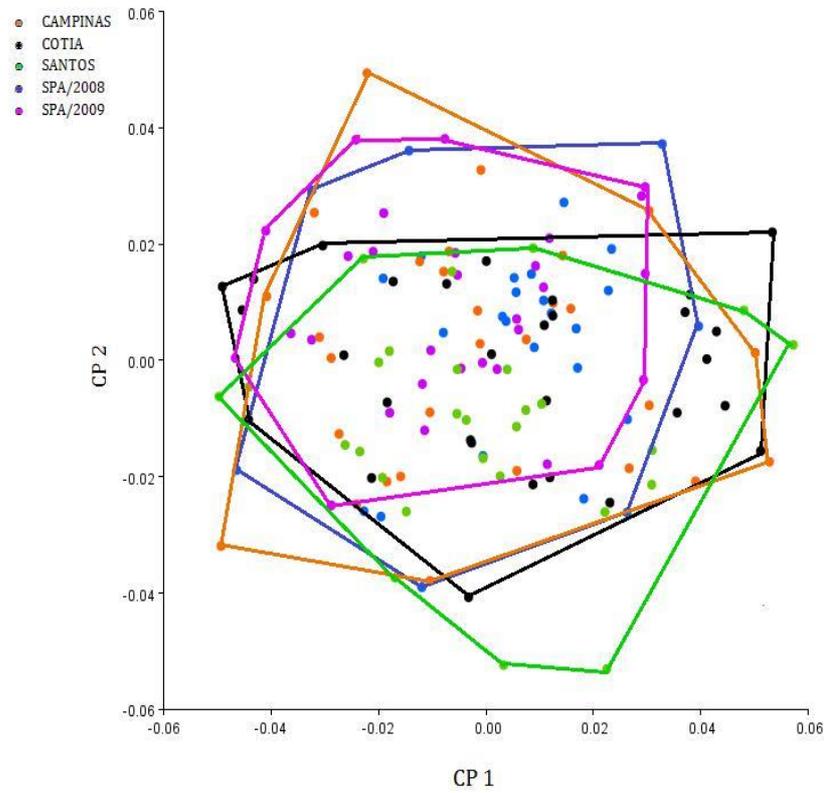
Fonte: A Autora.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras populacionais foram inicialmente reduzidas perante os indivíduos aberrantes (*outliers*) da margem de confiança de 95% estabelecida pelas elipses (Figura 3) e em seguida, buscou-se fixar um número mínimo, por meio da exclusão aleatória de indivíduos de todas as populações, exceto de SPA/2008, devido ao seu tamanho já reduzido, o que também a excluiu da análise feita para machos. O que totalizou um número mínimo díspar de 28 para fêmeas e 24 para os machos, dada a quantidade de material de cada sexo disponível. Para realização da análise dos CPs feita para comparar o MD de machos e fêmeas usou-se dos mesmos critérios para selecionar de 16 a 20 indivíduos. Por senso comum, a homogeneização de números amostrais é desejável em análises estatísticas multivariadas como as análises de componentes principais.

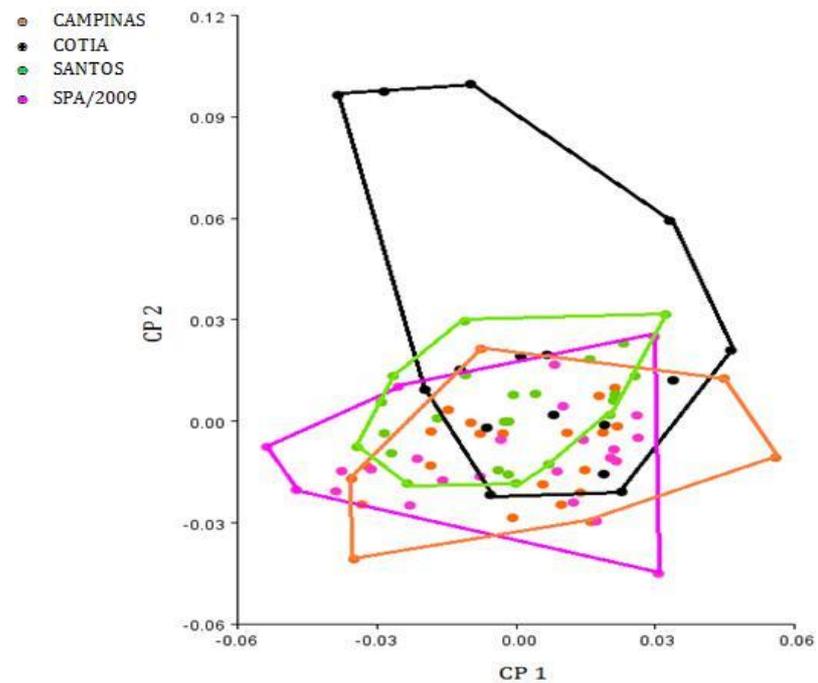
A análise dos componentes principais, em que CP1 é mais influente que CP2 e assim por diante, expõe a dispersão dos indivíduos no morfoespaço (Figuras 4 e 5) realizada após a padronização do número da amostra forneceu dados para o cálculo do tamanho do centroide de cada população caracterizando o quão distintas morfologicamente elas seriam (Figuras 6 e 7). Entre as fêmeas encontrou-se uma diversidade morfológica acentuada nas populações de COT e CAM, enquanto as amostras de SAN, SPA/2008 e SPA/2009 aparecem respectivamente indicando um menor índice MD de suas amostras. A análise de machos foi ligeiramente discrepante, já que embora a maior MD entre as populações de machos tenha sido de COT, CAM aparece com MD menor do que a de SPA/2009, amostra de segunda maior MD. Todos os resultados convergem para se afastar a ideia de que haveria uma homogeneidade morfoalar entre as populações abordadas.

FIGURA 4. Gráfico bidimensional de dispersão dos indivíduos no morfoespaço (vide figura 3) feito a partir das 18 *landmarks* das asas de fêmeas de *Ae. albopictus* após exclusão de *outliers*.



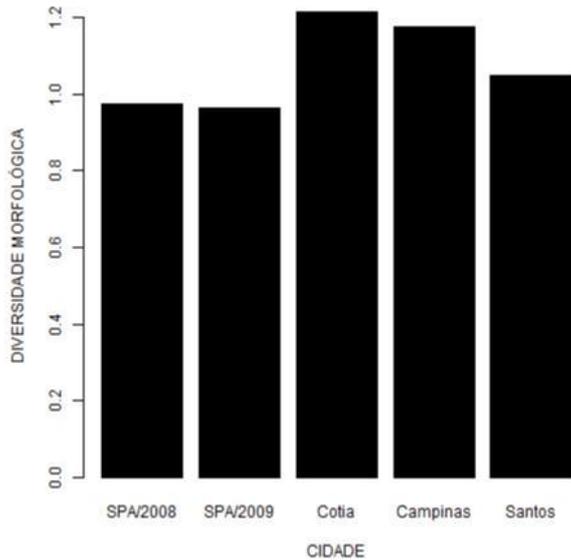
Fonte: A autora

FIGURA 5. Gráfico bidimensional de dispersão dos indivíduos no morfoespaço (vide figura 3) feito a partir das 18 *landmarks* das asas de machos de *Ae. albopictus* após exclusão de *outliers*.



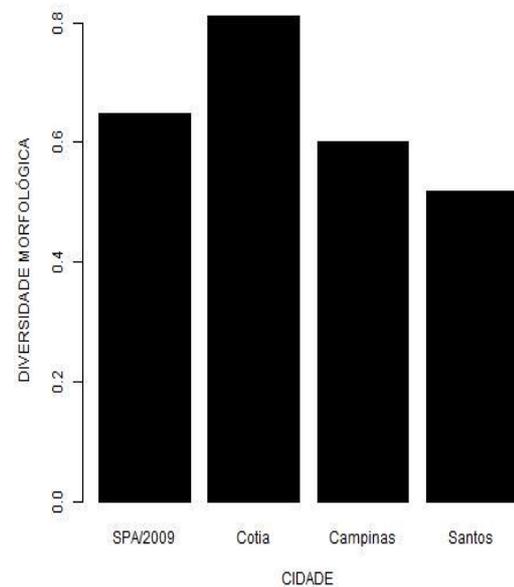
Fonte: A autora

FIGURA 6. Gráfico de barras descrevendo a magnitude da diversidade morfológica das cinco populações amostradas por fêmeas de *Ae. albopictus*. A magnitude é expressa como índice MD, derivada do tamanho do centroide da dispersão dos indivíduos no morfoespaço.



Fonte: A Autora.

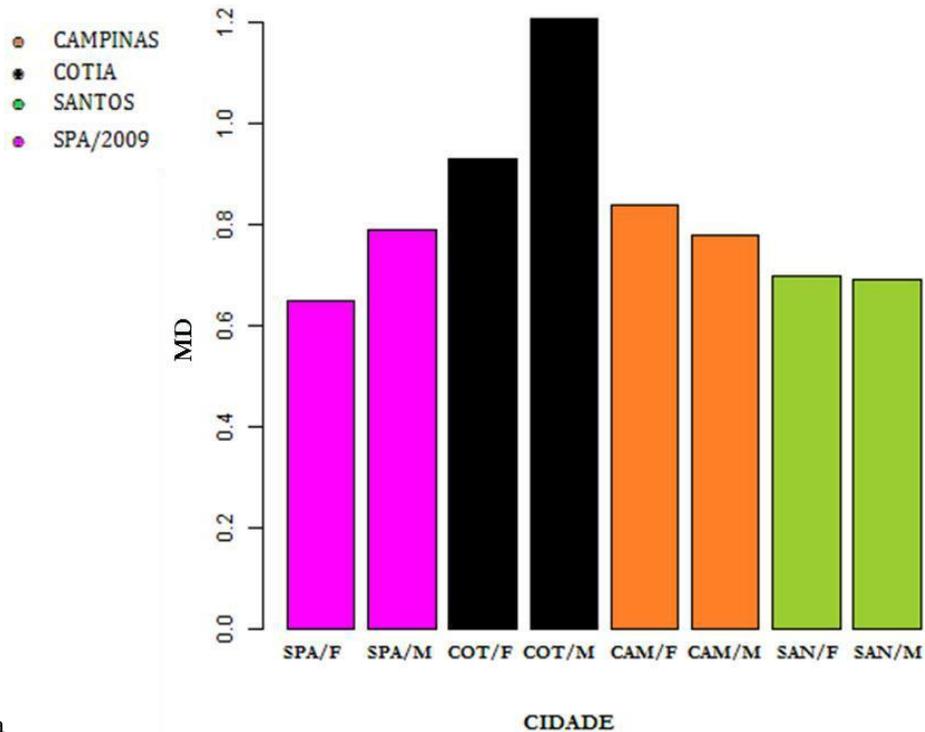
FIGURA 7. Gráfico de barras descrevendo a magnitude da diversidade morfológica das quatro populações amostradas por machos de *Ae. albopictus*.



Fonte: A Autora.

O dimorfismo sexual, embora não tenha sido objeto inicial deste estudo, permitiu algumas observações e conclusões. Calculado o valor de  $Q_{st}$ , o que foi feito com e sem a presença dos indivíduos tomados como *outliers*, obteve-se valores de 0,40 para fêmeas e 0,37 para machos corroborando a diferença de fato existente entre as cinco populações de *Ae. albopictus* aqui abordadas e também entre fêmeas e machos (Figura 8), podendo ser imputadas ao dimorfismo sexual alar observado em culicídeos (VIRGINIO et al., 2015). O que daria-se devido as diferentes pressões seletivas que esses sofrem, dado que os machos são capazes de copular com várias fêmeas atraídas por sons alares, enquanto as fêmeas sendo hematófagas carecem voar de maneira que possam encontrar fontes sanguíneas. Sabendo que as fêmeas de *Ae. albopictus* são maiores que os machos como visto no mesmo estudo, somado ao fato que os dados aqui expostos não contam com a retirada da alometria, poderia haver um ruído do tamanho sobre a forma da asa. Contudo, Virginio et al. (2015) demonstraram uma interferência mínima da alometria sobre as asas de macho e fêmea, assim como um menor dimorfismo sexual em *Ae. albopictus* dentre as dez espécies de mosquito abordadas.

FIGURA 8. Gráfico de barras descrevendo a magnitude da diversidade morfológica das quatro populações amostradas por machos e fêmeas de *Ae. Albopictus*. F – fêmeas, M – machos.



Fonte: A Autora

Independentemente da existência de diferença de resultados para machos e fêmeas, é possível traçar um paralelo entre os sexos quanto aos índices de maior e menor MD encontrados (Figuras, 6, 7 e 8). Logo, não parece existir problema em se considerar apenas a diversidade morfológica de um dos sexos. Isso é válido sobretudo, pois em Culicidae as fêmeas são as responsáveis pela difusão de patógenos.

O estudo morfogenético apresentado neste trabalho assinala primeiramente a divergência populacional de *Ae. albopictus* das cidades amostradas, revelando a diversidade morfológica existente nessas populações dentro do período abarcado pelas amostras. Sabendo que a maior dissimilaridade encontrada foi entre as cidades mais próximas e mais distantes nessa ordem, SPA/2009 e COT (36,2 km) e entre CAM e SAN (178,0 km) para fêmeas, nota-se que não houve relação entre a magnitude da diversidade morfológica e a distância entre as populações. Associação essa que Petersen et al. (2015) também não verificaram ao caracterizar *Aedes scapularis* do eixo Rio de Janeiro-São Paulo aplicando marcadores morfológicos, sugerindo que a diversidade genética em culicídeos ou ao menos no gênero *Aedes* não é correlata a distância geográfica entre populações que poderiam apresentar fluxo

gênico, estando esse possivelmente mais conexo a fatores alheios ao mosquito, como o transporte passivo.

Apesar de não dispormos de dados de estações climáticas concomitantes às temporadas de coleta como descrito por Vidal et al. (2012a), esses fatores teriam pouca relevância no resultado, já que avaliamos aqui a forma da asa e não seu tamanho (MORALES-VARGAS et al., 2010). Sendo assim, a morfometria geométrica foi capaz de discriminar as amostras não só geográfica, mas também temporalmente, quando considera-se SPA/2008 e SPA/2009. Resultados e interpretações semelhantes foram obtidos por Vidal & Suesdek (2015) quanto a populações de *Ae. aegypti* separadas por longas distâncias que mesmo assim puderam ser diferenciadas por esse método.

Vidal (2015) encontrou para *Ae. aegypti* uma maior diferenciação nas populações coletadas em Santos, tal como Paduan & Ribolla (2008) ambos atribuíram à presença do porto marítimo na cidade que recebe continuamente indivíduos exóticos daquela espécie, como uma das causas da ampla variabilidade morfogenética observada. Tal interpretação talvez não seja válida para *Ae. albopictus* dado o fato de que esta espécie não apresentou maior variabilidade em Santos. É plausível imaginar que outros fatores contribuam para este cenário, como condições ambientais mais favoráveis presentes nas cidades em que houve maior índice MD, visto que as condições geográficas interagem com o fenótipo e genótipo de organismos (ARMBRUSTER et al., 2001). Outra possibilidade seria a de que nos locais de maior MD haveria maior taxa de disseminação passiva (via transporte de pneus, plantas) (MEDLEY et al., 2015).

Ainda que este estudo não reflita o cenário atual quanto ao aspecto morfogenético de *Ae. albopictus* nas regiões analisadas, as populações amostradas apresentaram uma variabilidade morfológica alta, com valores  $Q_{st}$  semelhantes aos encontrados para *Ae. aegypti* (LOUISE et al., 2015). Além disso, *Ae. albopictus* parece contar com uma retenção de polimorfismo, visto que assim como para *Ae. aegypti* tem-se verificado uma certa preservação da variabilidade em relação ao centro de origem e o último local a ser invadido (POWELL & TABACHNICK, 2013).

Sendo o resultado obtido eficiente em demonstrar o potencial de variação morfológica da espécie, seria interessante que fossem feitos estudos que continuem a considerar não só populações geográficas, mas que também se atentem aos anos em que se dão as coletas. Posto que a assincronia temporal existente no presente estudo limitou conclusões justamente devido a microevolução que sofrem os mosquitos em curtos períodos

de tempo (VIDAL et al., 2012a). Fatores metodológicos que poderiam enriquecer os dados a cerca do índice de diversidade morfológica e da estruturação populacional, principalmente se aliados a caracterização dos micro-habitats das populações geográficas abordadas.

## 5. CONCLUSÕES

- As cinco populações de *Ae. albopictus* revelaram-se heterogêneas em relação à forma alar;
- A morfometria geométrica foi capaz de distinguir entre as populações, de acordo com a localização geográfica e temporal delas;
- Os maiores índices de diversidade foram os das populações de Cotia e Campinas, diferentemente do que se esperava;
- Não há indício de que fêmeas ou machos tendam a se diferenciar significativamente quanto ao MD.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, C. M. R. DE MELO-SANTOS, M. A. V. et al. **Primeiro registro de *Aedes albopictus* em área da Mata Atlântica, Recife, PE, Brasil.** São Paulo: Revista de Saúde Pública, v. 34, n. 3, p. 314-15, 2000. DOI: 10.1590/s0034-89102000000300017.
- ARMBRUSTER, P.; BRADSHAW, W. E.; RUEGG, K.; HOLZAPFEL, M. **Geographic variation and the evolution of reproductive allocation in the pitcher-plant mosquito, *Wyeomyia smithi*.** Evolution, v. 55, p. 439-44, 2001. DOI: 10.1554/0014-3820(2001)055[0439:GVATEO]2.0.CO;2.
- BOMFIM, Z. V.; LIMA, K. M.; SILVA, J. G.; COSTA, M. A.; ZUCCHI, R. A. A. **Morphometric and Molecular Study of *Anastrepha pickeli* Lima (Diptera: Tephritidae).** Brasil: Neotropical Entomology, v. 40, n. 5, p. 587–594, 2008. DOI: 10.1590/S1519-566X2011000500010.
- BOOKSTEIN, F. L. **Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology.** Reino Unido: Cambridge University Press, 1997. DOI: 10.1017/CBO9780511573064. .
- BROGDON, W. G. **Measurement of flight tone differences between female *Aedes aegypti* and *A. albopictus* (Diptera: Culicidae).** Journal of Medical Entomology, v. 31, n. 5, p. 700–703, 1994. DOI: 10.1093/jmedent/31.5.700.
- BURALI, G. M.; MARQUES G.; GEROLA, JR. O. **Distribuição geográfica de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no Estado de São Paulo.** Brasil: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 24, 1991.
- CALADO, D. C.; NAVARRO-SILVA, M. **A influência da temperatura sobre a longevidade, fecundidade e atividade hematofágica de *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse, 1894 (Diptera, Culicidae) sob condições de laboratório.** Brasil: Revista Brasileira de Entomologia, v. 46, n. 1, p. 93–98, 2002. DOI: 10.1590/S0085-56262002000100011.
- CAMINADE, C. et al. **Suitability of European climate for the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus*: recent trends and future scenarios.** Liverpool: J. R. Soc. Interface, v. 9, p. 2708–2717, 2012. DOI: 10.1098/rsif.2012.0138.
- CHRISTE, R. O.; WILKE, A. B. B.; VIDAL, P. O.; MARRELLI, M. T. **Wing sexual dimorphism in *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae).** Infection Genetics and Evolution, v. 45, p. 434-6, 2016. DOI: 0.1016/j.meegid.2016.10.007.
- COUTO-LIMA, D. et al. **Potential risk of re-emergence of urban transmission of Yellow Fever virus in Brazil facilitated by competent *Aedes* populations.** Scientific Reports, v. 7, n. 4848, p. 1-12, jul. 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-05186-3.
- CRAVEN, R. B. et al. **Importation of *Aedes albopictus* and other exotic mosquito species into the United States in used tires from Asia.** Journal of the American Mosquito Control Association, v. 4, n. 2, p. 138-42, 1988. PMID: 2903907.
- DE LAMBALLERIE, X. et al. **Chikungunya virus adapts to tiger mosquito via evolutionary convergence: a sign of things to come?** Virol. J., p. 1-4, 2008. DOI: 10.1186/1743-422X-5-33.

- DELATTE, H., C. PAUPY, J. S. DEHECQ, J. THIRIA, A. B. FAILLOUX, AND D. FONTENILLE. ***Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue viruses in Reunion Island: biology and control.** Parasite, v. 15, p. 3–13, 2008. DOI: 10.1051/parasite/2008151003.
- DEVICARI, M.; LOPES, A. R.; SUESDEK, L. **Wing sexual dimorphism in *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae).** São Paulo: Biota Neotrop., v. 11, p. 165–9, 2011. DOI: 10.1590/S1676-06032011000200016.
- DUJARDIN, J. P. **Morphometrics applied to medical entomology.** Infection Genetics and Evolution, v. 8, n. 6, p.875–90, 2008a. DOI: 10.1016/j.meegid.2008.07.011.
- DUJARDIN, J.P.; COSTA, J.; BUSTAMANTE, D.; JARAMILLO, N.; CATALÁ, S. **Deciphering morphology in Triatominae: the evolutionary signals.** Acta Trop., v. 110, p. 101-111, 2008b. DOI: 10.1016/j.actatropica.2008.09.026.
- DUJARDIN, J. P. **COV for Windows** [<http://mome-clic.com/thecliv-package/>], 2017.
- FANTINATTI, E. C. S.; DUQUE, J. E. L.; SILVA, A. M.; NAVARRO-SILVA, M. A. N. **Abundância e agregação de ovos de *Aedes aegypti* L. e *Aedes albopictus* (Skuse), (Diptera: Culicidae.) no norte e noroeste do Paraná.** Londrina: Neotropical Entomology, v. 36, n.6, p. 960-965, 2007. DOI: 10.1590/S1519-566X2007000600020.
- FERNÁNDEZ, Z.; MONCAYO, A.; FORATTINI, O. P.; WEAVER, S. C. **Susceptibility of urban and rural populations of *Aedes albopictus* from São Paulo State, Brazil, to infection by Dengue-1 and -2 viruses.** São Paulo: J. Med. Entomol, v. 41, p. 961–964, 2004. DOI: 10.1603/0022-2585-41.5.961.
- FORATTINI, O. P. **Identificação de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) no Brasil.** São Paulo: Revista de Saúde Pública, v. 20, n. 3, p. 244-245, 1986. DOI: 10.1590/S0034-89101986000300009.
- FORATTINI, O. P. **Significado epidemiológico dos criadouros de *Aedes albopictus* em bromélias.** São Paulo: Revista de Saúde Pública, v. 32, n. 2, p. 186-8, 1998. DOI: 10.1590/S0034-89101998000200014.
- FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica: Identificação, Biologia, Epidemiologia. Volume II.** São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2. ed. 2002.
- FORNEL, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P. **Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos.** In: MARINHO, J. R.; HEPP, L. U; FORNEL, R. Temas em Biologia. Erechim: Edifapes, 2012. DOI: 10.13140/2.1.1793.1844.
- GARDNER, L. M.; CHEN N.; S. SARKAR. **Global risk of Zika virus depends critically on vector status of *Aedes albopictus*.** Lancet Infect. Dis., v. 16, p. 522-533, 2016. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)00176-6.
- GERHARDT, R. R. et al. **First isolation of La Crosse virus from naturally infected *Aedes albopictus*.** Emerg. Infect. Dis., v. 7, n. 5, p. 807-811, 2001. DOI: 10.3201/eid0705.017506.

GOMES, A. DE C.; MARQUES, G. R. A. M. **Encontro de criadouro natural de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse), Estado de São Paulo, Brasil.** São Paulo: Revista de Saúde Pública, v. 22, n. 3, p. 245, 1988. DOI: 10.1590/S0034-89101988000300013.

GOUBERT, C.; MINARD, G.; VIEIRA, C.; BOULESTEIX, M. **Population genetics of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus*, an invasive vector of human diseases.** Reino Unido: Heredity, v. 117, p.125–34, 2016. DOI: 10.1002/ece3.3514.

GRARD, G., M. et al. **Zika virus in Gabon (Central Africa)–2007: a new threat from *Aedes albopictus*?** PLoS Negl. Trop. Dis., v. 8, p. 26-81, 2014. DOI: 10/1371/journal.pntd.0002681.

HANSON, S. M. and CRAIG, G. B. Jr. **Cold acclimation, diapause, and geographic origin affect cold hardiness in eggs of *Aedes albopictus* (Diptera:Culicidae).** Oxford: J. Med. Entomol, v. 31, p. 192–201, 1994. DOI: 10.1093/jmedent/31.2.192.

HAWLEY, W. A. **The biology of *Aedes albopictus*.** Journal of the American Mosquito Control Association, supl. 1. p. 1-40, 1988. DOI:

HENRY, A.; THONGSRIPONG, P.; FONSECA-GONZALEZ I.; JARAMILLO-OCAMPO N.; DUJARDIN, J. P. **Wing shape of dengue vectors from around the world.** Infect Genet. Evol., v. 10, n. 2, p. 207–14, 2010. PMID: 3068349.

JIRAKANJANAKIT, N.; LEEMINGSAWAT, S.; DUJARDIN, J. P. **The geometry of the wing of *Aedes (Stegomyia) aegypti* in isofemale lines through successive generations.** Infect. Genet. Evol., v. 8, n. 4, p. 414–21, 2008. DOI: 10.1016/j.meegid.2009.12.001.

KLEMPNER, M. S.; UNNASCH, T. R.; HU, L. T. **Taking a bite out of vector-transmitted infectious diseases.** Reino Unido: New England Journal Of Medicine, v. 356, n. 25, p. 2567-69, 2007. DOI: 10.1056/NEJMp078081.

KLINGENBERG, C. P. **MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics.** Mol. Ecol. Resour., v. 11, p. 353–7, 2011. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x.

KRAEMER, M. U. G. et al. **The global compendium of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* occurrence.** Sci. Data, v. 2, p. 1-8, 2015. DOI: 10.1038/sdata.2015.35.

LORENZ, C.; ALMEIDA, F.; ALMEIDA-LOPES, F.; et al. **Geometric morphometrics in mosquitoes: What has been measured?** Infection, Genetics and Evolution, v. 54, p. 205–215, 2017. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.06.029.

LOUISE, C.; VIDAL, P. O.; SUESDEK, L. **Microevolution of *Aedes aegypti*.** PLOS ONE, v. 10, n. 9, p. 1-16, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0137851.

LOUNIBOS, L P. **Invasions by insect vectors of human diseases.** Palo Alto: Annual Review of Entomology, v. 47, p.233–266, 2002. DOI: 10.1146/annurev.ento.47.091201.145206.

LOWE, S.; BROWNE, M.; BOUDJELAS, S.; DE POORTER M. **100 of the World’s Worst Invasive Alien Species: A selection from the Global Invasive Species Database.** The

Invasive Species Specialist Group (ISSG) a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN), 2004. Disponível em: <<https://www.iucn.org/content/100-worlds-worst-invasive-alien-species-a-selection-global-invasive-species-database>>.

LOZOVEI, A. L. **Culicídeos (Mosquitos)**, p.59-104. In Marcondes, C, B (org.). São Paulo: Editora Atheneu, 1ª ed., 2001.

MARINI, F.; CAPUTO, B.; POMBI, M.; TARSITANI, G.; DELLA TORRE, A. **Study of *Aedes albopictus* dispersal in Rome, Italy, using sticky traps in mark-release recapture experiments**. Med. Vet. Entomol., v. 24, n. 4, p. 361–368, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2915.2010.00898.x.

MARQUES, G.; SANTOS R. C.; FORATTINI, O. P. ***Aedes albopictus* em bromélias de ambiente antrópico no Estado de São Paulo**. São Paulo: Revista de Saúde Pública, v. 33, 2001. DOI: 10.1590/S0034-89102001000300005.

MEDLEY, K. A.; JENKINS, D. G.; HOFFMAN, E. A. **Human-aided and natural dispersal drive gene flow across the range of an invasive mosquito**. Mol. Ecol., v. 24, p. 284–295, 2015. DOI: 10.1111/mec.12925.

MEDLOCK, J. M, et al. **A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options**. Vector Borne Zoonotic Dis., v. 12, p. 435–47, 2012. DOI: 10.1089/vbz.2011.0814.

MITCHELL, C. et al. **Isolation of eastern equine encephalitis virus from *Aedes albopictus* in Florida**. Science, v. 257, p. 526-527, 1992. DOI: 10.1126/science.1321985.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica**. Ribeirão Preto: Holos, 1999.

MORALES-VARGAS, E. R. et al. **Climate associated size and shape changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand**. Infect. Genet. Evol., v. 10, p. 580-585, 2010. DOI: 10.1016/j.meegid.2010.01.004.

NATAL, D. et al. **Encontro de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) em Bromeliaceae na periferia de São Paulo, SP, Brasil**. São Paulo: Revista de Saúde Pública, v. 31, n. 5, p. 517-518, 1997. DOI: 10.1590/S0034-89101997000600012.

NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Editora Atheneu, 13ª ed., 2016.

PADUAN, K. dos S. & RIBOLLA, P. E. M. **Mitochondrial DNA polymorphism and heteroplasmy in populations of *Aedes aegypti* in Brazil**. Journal of Medical Entomology, v. 45, p. 59–67, 2008. DOI: 10.1603/0022-2585(2008)45[59:MDPAHI]2.0.CO;2.

PAUPY, C., H. DELATTE, L. BAGNY, V. CORBEL, AND D. FONTENILLE. ***Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light**. Microbes Infect., v. 11, p. 1177–1185, 2009. DOI: 10.1016/j.micinf.2009.05.005.

POWELL, J. R. & TABACHNICK, W. J. **History of domestication and spread of *Aedes aegypti* – a review**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 108, p. 11–17, 2013. DOI: 10.1590/0074-0276130395.

- R CORE TEAM: **A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2013. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 18 out. 2018.
- REITER, P. & SPRENGER, D. **The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes**. *J Am Mosq Control Assoc.*, v. 3, p. 494-501, 1987. PMID: 2904963.
- ROHLF, F. J. **tpsDig versão 1.4**. New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2006. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>>. Acesso em 28 jun. 2018.
- ROHLF, F. J. **tpsRelw versão 1.11**. New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2017. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>>. Acesso em 28 jun. 2018.
- ROHLF, F. J. **tpsUtil versão 1.76**. New York: Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2018. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>>. Acesso em 28 jun. 2018.
- ROMI, R.; SEVERINI, F. & TOMA, L. **Cold acclimation and overwintering of female *Aedes albopictus* in Roma**. *Estados Unidos da América: J. Am. Mos. Contr. Assoc.*, v. 22, p. 149–151, 2006. DOI: 10.2987/8756-971X(2006)22[149:CAAOOF]2.0.CO;2.
- SANTOS, S. O. DOS.; NASCIMENTO, J. C. DO. **Primeiro registro da presença do *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) em Mato Grosso do Sul, Brasil**. São Paulo: *Revista de Saúde Pública*, v. 32, n. 5, p. 486, 1998. DOI: 10.1590/S0034-89101998000500013.
- SUESDEK, L. **Microevolution of medically important mosquitoes - A review**. *Acta Tropica*, 2019. DOI: 10.1016/j.actatropica.2018.12.013.
- TEMPLETON, A. R. **Genética de populações e teoria microevolutiva**. São Paulo: Holos Press; 2011.
- TRPIS, M. & HAUSERMANN, W. **Dispersal and other Population Parameters of *Aedes aegypti* in an African Village and their Possible Significance in Epidemiology of Vector-Borne Diseases**. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 35, p. 1263–79, 1986. PMID: 3789275.
- UNLU, I.; FARAJOLLAHI, A.; STRICKMAN, D.; FONSECA, D. M. **Crouching tiger, hidden trouble: urban sources of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) refractory to source reduction**. *PLoS One*, v. 8, p. 1-11, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0077999.
- UNLU, I.; FARAJI, A.; INDELICATO, N.; FONSECA, D. M. **The hidden world of Asian tiger mosquitoes: immature *Aedes albopictus* (Skuse) dominate in rainwater corrugated extension spouts**. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 108, p. 699–705, 2014. DOI: 10.1093/trstmh/tru139.
- URBINATTI, P. R.; MENEZES, R. M. T. DE.; NATAL, D. **Sazonalidade de *Aedes albopictus* em área protegida na cidade de São Paulo, Brasil**. São Paulo: *Revista de Saúde Pública*, v. 41, n. 3, 2007. DOI: 10.1590/S0034-89102006005000027. Acesso em 27 set. 2018.

VIDAL, P. O.; PERUZIN, M. C.; SUESDEK, L. **Wing diagnostic characters for *Culex quinquefasciatus* and *Culex nigripalpus* (Diptera, Culicidae)**. Brasil: Revista Brasileira de Entomologia, v. 55, n. 1, p. 134-37, 2011. DOI: 10.1590/S0085-56262011000100022.

VIDAL, P. O.; CARVALHO, E.; SUESDEK, L. **Temporal variation of wing geometry in *Aedes albopictus***. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 107, n. 8, p. 1030-4, 2012a. DOI: 10.1590/S0074-02762012000800011.

VIDAL, P. O.; SUESDEK, L. **Comparison of wing geometry data and genetic data for assessing the population structure of *Aedes aegypti***. Infection Genetics and Evolution, v. 12, n.3, p. 591-6, 2012b. DOI: 10.1016/j.meegid.2011.11.013.

VIDAL, P. O. *Caracterização molecular e morfológica de populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) no Estado de São Paulo*. Dissertação (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

VILLEGAS, J.; FELICIANGELI, M. D.; DUJARDIN, J. P. **Wing shape divergence between *Rhodnius prolixus* from Cojedes (Venezuela) and *Rhodnius robustus* form Merida (Venezuela)**. Infect. Genet. Evol., v. 2, p. 121-8, 2002. DOI: 10.1016/S1567-1348(02)00095-3.

VIRGINIO, F.; VIDAL, P. O.; SUESDEK, L. **Wing sexual dimorphism of pathogen-vector culicids**. Reino Unido: Parasit Vectors, v. 8, p.159, 2015. DOI: 10.1186/s13071-015-0769-6.

WONG, P. S., M. Z. LI, C. S. CHONG, L. C. NG, & C. H. TAN. ***Aedes* (Stegomyia) *albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore**. PLoS Negl. Trop. Dis., v. 7, p.23-48, 2013. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002348.