



DIMORFISMO SEXUAL DE PUPAS DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) E *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (DIPTERA: CULICIDAE)

Grafe Oliveira Pontes¹, William Ribeiro da Silva², Francisco Augusto da Silva Ferreira², Rosemary Aparecida Roque³, Wanderli Pedro Tadei³, João Antônio Cyrino Zequi⁴, Nelson Ferreira Fé⁵, Ariane Barbosa de Freitas⁶, Suzan Simões Vieira⁶, Silvia Cássia Brandão Justiniano⁷

Resumo

Aedes aegypti e *Aedes albopictus* são vetores de grande importância e preocupação para a Saúde Pública. A identificação taxonômica de pupas é comumente ignorada em programas de Vigilância Epidemiológica. Uma pesquisa de pupas poderá determinar o número de fêmeas adultas e o risco de transmissão de doenças. A análise morfológica foi realizada em espécimes íntegros de machos e fêmeas, analisando o nono e décimo segmento abdominal, genitálias e paletas natatórias. As pupas demonstram diferenças apreciáveis no tamanho, com fêmeas maiores que o macho. A relação entre o comprimento do décimo segmento e as paletas natatórias são semelhantes entre pupas do mesmo sexo de *A. aegypti* e *A. albopictus*, com tamanho aproximado de um terço das paletas entre os machos e um quarto do tamanho entre as fêmeas. As diferenças sexuais são facilmente notadas na região central e lóbulos secundários do décimo segmento, correspondendo ao tamanho da genitália em pupas machos e fêmeas, mas, com grande semelhança desta estrutura entre as duas espécies. As paletas natatórias destes insetos detêm algumas diferenças, entre elas, cerdas longas e em forma de franja filamentosa ou denticulos parecidos com dentes ao longo da borda de suas paletas. Uma longa e robusta cerda, originada no ápice central das paletas até na re-

¹ Pesquisador FMT-HV Entomologia, Manaus, AM, Brasil, correspondência: grafeoliveira@gmail.com.

² INPA, Lab. Malária e Dengue, Manaus-AM: wrdso21@gmail.com, fcoaugusto.bio@gmail.com.

³ Pesquisador INPA, Lab. Malária e Dengue, Manaus, AM, Brasil, rosebio1996@yahoo.com.br, wptadei@gmail.com.

⁴ Professor Adjunto, UEL, , Depto Biologia Animal e Vegetal, Londrina-PR: joaozequi@gmail.com.

⁵ Gerente de Entomologia FMT-HV, Centro de Entomologia, Manaus-AM: nelson@fmt.am.gov.br.

⁶ Apoio Técnico FMT-HV, Entomologia, Manaus, AM, Brasil ariane.nbas@gmail.com, sznsimoes@gmail.com.

⁷ Pesquisador Adjunto FMT-HV, Entomologia, Manaus, AM, Brasil, sjust27@yahoo.com.br.



gião terminal com curvatura convexa ou côncava. O dimorfismo entre pupas facilitará a criação e manutenção de colônias de *A. aegypti* e *A. albopictus*, evitando a manipulação dos insetos durante a fase adulta, que, por muitas vezes, ocasiona trauma e mutilação durante separação dos alados.

Palavras-chave: Imaturos; vetores; arbovíroses; colônia

Sexual dimorphism of pupae of *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus, 1762 and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). As an important vector of arboviruses, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* are vectors of great importance and are a major challenge in Public Health. Taxonomic identification of pupae is commonly overlooked in Epidemiological Surveillance programs. A pupae scientific research can determine the number of adult females and the risk of disease transmission. Morphological analysis was performed on intact male and female specimens, analyzing the ninth and tenth abdominal segment, genitals and swimming palettes. Pupae showed differences in size with females larger than male. tenth segment length and swimming palettes are similar between *A. aegypti* and *A. albopictus* same-sex pupae, with approximately one-third of the palettes between males and one-quarter of the size among females. Sexual differences are easily identified in the central region and secondary lobes of the tenth segment, corresponding to the size of the genitalia in male and female pupae. These structures are very similar between these two species. The swimming palettes of these insects have some differences, including long, filamentous bangs or tooth-like denticles along the edge of their palettes. A long and robust bristle, originating from the central apex of the palettes to the terminal region with convex or concave curvature. Pupal dimorphism will facilitate the cultivation and maintenance of *A. aegypti* and *A. albopictus* colonies, avoiding insect manipulation during adulthood, which often causes trauma and mutilation during wing separation.

Keywords: Immature; vectors; arboviruses; colony

1. Introdução

Os insetos da família Culicidae ocorrem nas cinco regiões biogeográficas do globo terrestre, sendo em ambientes de florestas tropicais, encontrada a maior diversidade de espécies (HARBACH, 2019; WRBU, 2019).

Os mosquitos do gênero *Aedes* Meigen 1818 são vetores de grande importância para a saúde pública em nível mundial, sobretudo as espécies *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (MARCONDES; XIME-



NES, 2016). Estes vetores são considerados espécimes invasoras e cosmopolitas, originárias da África e Ásia, respectivamente (HONÓRIO et al., 2015). A primeira, possui comportamento antropófilo, realizando o repasto sanguíneo e o repouso no interior de habitações. Já a segunda, exhibe comportamento alimentar diverso, alimentando-se e repousando preferencialmente no peridomicílio (HONÓRIO et al., 2009; NASEEM et al., 2016).

O mosquito *A. aegypti* é responsável pela transmissão dos vírus da Febre Amarela Urbana, dos quatro sorotipos do vírus da Dengue, Febre Chikungunya e Zika Vírus (PUSTIGLIONE, 2016). Por outro lado, *A. albopictus* pode servir como vetor primário (em regiões da Ásia) ou secundário (nas Américas) da Dengue e outros arbovírus, incluindo os causadores da encefalite do Nilo Ocidental, Febre Amarela Silvestre, Febre Chikungunya e Febre do Mayaro (SANCHEZ; CASTILLO; LIRIA, 2017).

Recentes trabalhos têm proposto que os levantamentos demográficos das pupas são mais úteis do que os índices larvais tradicionais para estimar populações (SANCHEZ; CASTILLO; LIRIA, 2017; BARREIRA 2016). As pupas possuem um aspecto de vírgula e se locomovem com muita facilidade, porém passam a maior parte do tempo imóveis. A temperatura ideal para essa fase de desenvolvimento do mosquito é de

27°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) com duração entre dois a três dias (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994).

A identificação taxonômica de pupas é comumente ignorada em programas de Vigilância Epidemiológica quando comparado ao de insetos adultos (BARREIRA, 2016). Uma pesquisa de pupa mais criteriosa poderia ser realizada determinando a relação de insetos machos / fêmeas, o que exigiria a capacidade de distinguir o sexo desses imaturos (HARRISON, 2005). Este aspecto é importante em estudos sobre desenvolvimento, comportamento e densidade (principalmente de fêmeas adultas) em condições naturais. Um dos requisitos básicos para entender a biologia do inseto e compreender a interação parasito-vetor é a criação e a manutenção de colônias sob condições controladas, em laboratório (PINA; FONSECA, 1999).

No cotidiano, as pupas são diferenciadas entre macho e fêmea apenas pelo tamanho. É comum os laboratórios não utilizarem técnicas ou protocolos para distinção de sexo dos imaturos do subgênero *Aedes* (*Stegomyia*), realizando a identificação apenas em formas adultas com auxílio do Capturador de Castro. Em virtude da importância epidemiológica dessas espécies, são necessários novos estudos com objetivo de desenvolver e aprimorar métodos eficazes para o controle de suas populações. Esses estudos implicam em alta

produção de insetos e constantes atualizações de técnicas de criação e descrição morfológica. Logo, este trabalho tem como objetivo visualizar e descrever o dimorfismo das pupas de *A. aegypti* e *A. albopictus* para auxiliar na distinção entre os sexos.

2. Material e Método

Nos experimentos, foram utilizados em média 200 de ovos de colônia de *A. aegypti* e *A. albopictus* (ANJOLETTE; MACORIS, 2016) pertencentes ao Laboratório de Malária e Dengue do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus-AM.

Após o período de incubação dos ovos, eclosão e desenvolvimento dos quatro estádios larvais, vinte pupas de cada espécie com idade média de um dia foram selecionadas e colocadas em freezer a -20°C por alguns minutos para inativar seus movimentos. Em seguida, as pupas foram transferidas individualmente para uma placa escavada de Kline para visualização em microscópio estereoscópio (Stemi 2000-C, Zeiss®, Germany) com câmera acoplada (ICc1) e magnificação de 14x. Pupas de ambos os sexos de *A. aegypti* e *A. albopictus* foram analisadas, visualizando o tamanho entre os sexos, diferenças morfológicas entre nono e décimo segmento abdominal, genitálias e paletas natatórias, conforme demonstrado por Forattini (1996), Consoli; Oliveira (1994), e Vargas (1968) (Figura 1).

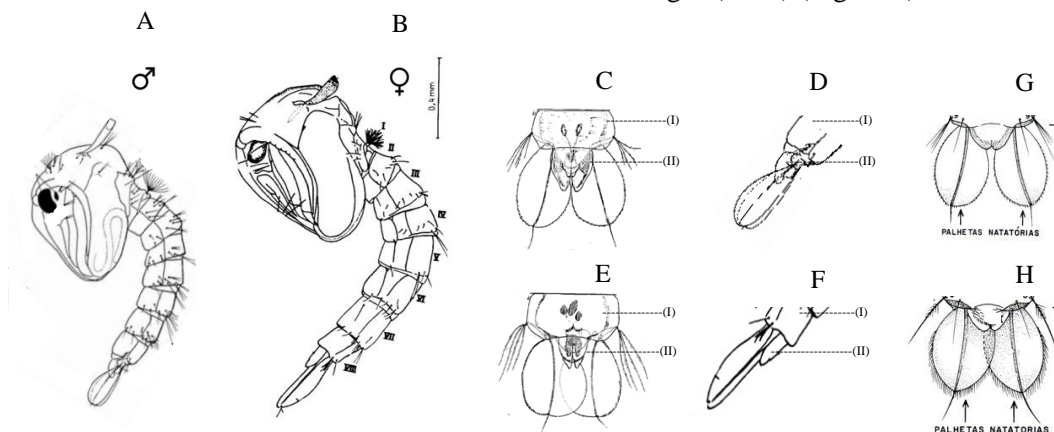


Figura 1 – Pupas do gênero *Aedes stegomyia*. A: Macho e B: Fêmea (vista lateral); C (vista ventral) e D (vista lateral): Nono segmento (I) e genitália masculina (II); E (vista ventral) e F (vista lateral): Nono segmento (I) e genitália feminina (II); G: Paletas natatórias de *A. aegypti* e H: Paletas natatórias de *A. albopictus* (vista ventral). Fonte: Forattini (1996), Consoli; Oliveira (1994), Vargas (1968) - Adaptado

3. Resultado e Discussão

Neste estudo, verificou-se que após 24-48 horas do final dos estágios larvais e antes da emergência do adulto, pupas de *A. aegypti* e *A. albopictus* apresentam diferenças apreciáveis no tamanho, com as fêmeas normalmente maiores que os ma-

chos. No entanto, quando são conhecidos caracteres de identificação para pupas, torna-se vantajoso a coleta e identificação destes imaturos (HARRISON; PEYTON, 1984). Além da diferença entre tamanhos, considera-se necessário apontar outras es-

truturas para definição mais descritiva entre os sexos destes imaturos (Figura 2).

Outra vantagem importante do uso de pupas como fonte de identificação é que as larvas estão sujeitas a taxas de mortalidade mais altas e fornecem uma estimativa menos

precisa do número de insetos adultos, principalmente fêmeas (FOCKS, 2003). Durante os experimentos deste estudo, a diferença entre o número de larvas e de pupas foi relativamente pequeno, corroborando com os resultados de Couret et al. (2014).

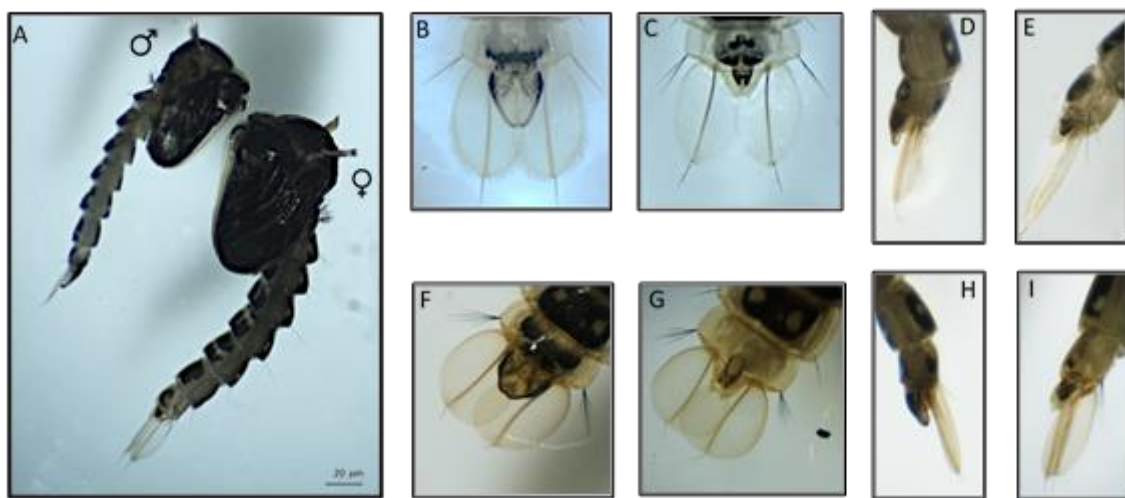


Figura 2 – Pupas do gênero *Aedes* (*Stegomyia*). A tamanho entre macho e fêmea; B e D: Nono segmento abdominal e genitália masculino de *A. Albopictus*, respectivamente; C e E: Nono segmento abdominal e genitália feminina de *A. albopictus*, respectivamente. F e H: Nono segmento abdominal e genitália masculino de *A. aegypti*, respectivamente; G e I: Nono segmento e genitália feminina de *A. aegypti*, respectivamente

Morfologicamente, as pupas de *A. aegypti* e *A. albopictus* têm o nono segmento fundindo ao tergito do oitavo segmento, com parte posterior em forma crescente e comprimento equivalente à metade do oitavo segmento (VARGAS, 1968; MOOREFIELD, 1951). Ventralmente o décimo segmento abdominal encontra-se unido ao esternito do oitavo seg-

mento. As diferenças sexuais são facilmente notadas na região central e lóbulos secundários do décimo segmento, correspondendo ao tamanho da genitália em pupas machos e fêmeas. Nas imagens pósterio-anterior (B, C, F e G) e perfil (D, E, H e I) da figura 2, é possível visualizar sem dificuldade os lobos genitais exibindo consideráveis dimorfismo sexual, e



grande semelhança desta estrutura entre as duas espécies.

As genitálias das pupas de *A. aegypti* e *A. albopictus* são bastante semelhantes, mas com uma sutil diferença em tamanho ao comparar o sexo masculino destas espécies, demonstrando genitália menor em *A. aegypti* (Figura 2). Além das características morfológicas das genitálias descritas por Vargas (1968) e Moorefield (1951), em pupas do gênero *Aedes*, este trabalho recomenda utilizar a morfologia das paletas natatórias como estrutura diferenciadora. Assim como descrito por Fernández (1989), foi verificado durante as visualizações das pupas que, *A. aegypti* possui pequenas projeções em forma de denticulos ao longo da borda de suas paletas, e posicionadas de maneira aproximada uma da outra. Esta estrutura possui uma longa e robusta cerda, semelhante ao *A. albopictus*, originada no ápice central e estende-se até a região terminal, diferenciando-a pela curvatura côncava (Figura 1: G e H; Figura 2: B, C, F e G).

A relação entre o comprimento do décimo segmento e as paletas natatórias são semelhantes entre pupas do mesmo sexo de *A. aegypti* e *A. albopictus*, com tamanho aproximado de um terço das paletas entre os machos e um quarto do tamanho entre as fêmeas. Harrison (2005), descreveu algumas características das paletas natatória de *A. albopictus*, diferenciando de outros culicídeos. Na

Figura 1 e 2 é possível verificar que estas estruturas são um pouco maiores que as paletas natatórias do *A. aegypti*, e posicionadas de maneira mais afastadas uma da outra. Suas cerdas são longas e com formato de franja filamentosa, recobrendo a margem e a toda extensão das paletas. Uma longa e robusta cerda, originada no ápice central estende-se até na região terminal com curvatura convexa.

4. Conclusão

Este trabalho demonstrou critérios morfológicos no dimorfismo sexual de pupas de *A. aegypti* e *A. albopictus*. É possível verificar diferenças no tamanho, nono e décimo seguimento abdominal, lobos genitais e paletas natatórias.

Os caracteres pupais descritos aqui facilitarão a montagem e manutenção de colônias de *A. aegypti* e *A. albopictus*, evitando a manipulação dos insetos em sua fase adulta, que, por muitas vezes, ocasiona trauma e mutilação durante a distinção sexual dos alados. A colonização destas espécies auxilia em pesquisas e estudos de sobrevivência, competição, disseminação, comportamento alimentar, produção de biomassa, controle e transmissão de vírus e parasitas.

Agradecimentos

A Universidade Federal do Amazonas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação de



Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado e aos amigos pesquisadores.

Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista Scientia Amazonia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

Referências

- ANJOLETTE, A. F. F., MACORIS, M. L. G. Técnicas para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório. **Bepa-Boletim Epidemiológico Paulista**, 2016, p. 19-29.
- BARRERA, R. Recomendaciones para la vigilancia de *Aedes aegypti*. **Biomédica**, 2016, v. 36, n. 3, p. 454-462.
- CONSOLI, R. A. G. B., DE OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. SciELO-Editora FIOCRUZ, 1994.
- COURET, J., DOTSON, E., BENEDICT, M. Q. Temperature, larval diet, and density effects on development rate and survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **PLoS One**, 2014, v. 9, n. 2, e87468.
- FERNÁNDEZ J. Resumo dos principais caracteres morfológicos diferenciais do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus*. **Ministério da Saúde**. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. SUCAM 1989; 19.
- FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica: Princípios gerais, morfologia, glossário taxonômico Vol. 1**. Ed. EDUSP, 1996.
- HARBACH, R. E. **Mosquito Taxonomic Inventory**. Disponível em: <<http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>>. Acesso em 10/ 02/ 2020.
- HARRISON, B. A. Easily seen characters to identify the pupa of *Aedes albopictus* in the united states. **Journal of the American Mosquito Control Association**, 2005, v. 21, n. 4, p. 451-454.
- HARRISON, B. A., PEYTON, E. L. The value of the pupal stage to anopheline taxonomy, with notes on anomalous setae (Diptera: Culicidae). **Mosquito systematics**, 1984, v. 16, p. 201-210.
- HONÓRIO, N. A., CÂMARA, D. C. P., CALVET, G. A., BRASIL, P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, 2015, v. 31, p. 906-908.
- HONÓRIO, N. A., CASTRO, M. G., BARROS, F. S. M., MAGALHÃES, M. A. F. M., SABROZA, P. C. The spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a transition zone, Rio de Janeiro, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, 2009, v. 25, p. 1203-1214.
- MARCONDES, C. B., XIMENES, M. D. F. F. D. Zika virus in Brazil and the danger of infestation by *Aedes (Stegomyia) mosquitoes*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2016, v. 49, n. 1, p. 4-10.
- MOOREFIELD, H. M. Sexual dimorphism in mosquito pupae. **Mosquito News**, 1951; v. 11, p. 175-177.
- NASEEM, S., MALIK, M. F., MUNIR, T. Mosquito management: A review. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, 2016, v. 4, n. 5, p. 73-79.



Ciências Biológicas

Scientia Amazonia, v. 9, n.2, B1-B8, 2020
Revista on-line <http://www.scientia-amazonia.org>
ISSN:2238.1910

PINA, I. G., DA FONSECA, A. H. Comportamento de *Aedes aegypti* L., 1762 (Diptera: Culicidae) alimentados artificialmente com sangue de diferentes espécies de doadores. **Revista de Patologia Tropical**, 1999, v. 28, n. 1, p. 64-71.

PUSTIGLIONE, M. Medicina do Trabalho e doenças emergentes, reemergentes e negligenciadas: a conduta no caso das febres da dengue, do Chikungunya e do Zika vírus. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, 2016, v. 14, n. 1, p. 1-12.

SANCHEZ, E., CASTILLO, D., LIRIA, J. Pupal shape and size dimorphism in *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). **Journal of Threatened Taxa**, 2017, v. 9, n. 6, p. 10314-10319.

VARGAS, V. M. Sexual dimorphism of larvae and pupae of *Aedes aegypti* (Linn.). **Mosquito News**, 1968; v. 28, n. 3, p. 374-379.

WALTER REED BIOSYSTEMATICS UNIT (WRBU). **Mosquito identification resources**. Disponível em: <http://www.wrbu.org/Ve-cID_MQ.html>. Acesso em: 10/ 02/ 2020.