

DIMORFISMO SEXUAL ALAR EN *Aedes (Stegomyia) aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) DE VENEZUELA

Elvira Sánchez^{*1,2} y *Jonathan Liria*^{2,3}

1. Departamento de Biología de Organismos, División de Ciencias Biológicas. Universidad Simón Bolívar, Caracas. Venezuela. 2. Centro de Estudios en Zoología Aplicada, Laboratorio Museo de Zoología, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología. Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela. 3. Universidad Regional Amazónica IKIAM, Napo. Ecuador. *elviraalejandra@gmail.com.

RESUMEN

La propagación del Dengue (DENV) está vinculada con la presencia de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), el manejo y prevención del DENV dependen principalmente del control de los mosquitos vectores. Solo las hembras presentan hábitos hematófagos y capacidad vectorial, por ello discriminar entre machos y hembras es de especial importancia en estudios ecoepidemiológicos. Recientemente, se ha utilizado la conformación alar para describir dimorfismo sexual en insectos de importancia médica haciendo uso de la morfometría geométrica. En el presente estudio se utilizó la conformación de 80 estructuras alares (Hembras, n=40; Machos, n=40), como marcador morfológico para determinar dimorfismo sexual en *Ae. aegypti*. Se registraron configuraciones de coordenadas (x, y) a partir de 19 Puntos Anatómicos de Referencia (PAR) y se alinearon mediante un Análisis Generalizado de Procrustes. Se realizó un análisis discriminante (AD) para comprobar diferencias en la conformación alar de cada individuo por grupo (hembra o macho), y una prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias en el tamaño isométrico (CS) de acuerdo al sexo. Se obtuvieron diferencias significativas a partir de la conformación alar ($P < 0,0001$) y el tamaño isométrico ($P < 0,001$). Las principales diferencias fueron observadas en los PAR ubicados en la región media del ala. Los resultados corroboran que en culicidos, la expresión fenotípica de la conformación alar es específica de acuerdo al sexo, y sugieren que el patrón de venación alar, en especial la región media proporciona un importante conjunto de PAR para el análisis geométrico, que podría considerarse para determinar dimorfismo sexual en *Ae. aegypti*.

Palabras clave: Dengue, vectores, Aedini, conformación, tamaño centroide.

Wing sexual dimorphism in *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) from Venezuela

Abstract

The spread of dengue (DENV) is linked with the presence of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), management and prevention of DENV depend mainly on the control of mosquito vectors. Only the females have blood-sucking habits and vectorial capacity for spread virus, therefore, the discrimination between males and females is especially important in eco-epidemiological studies. Recently, wing shape has been used to describe sexual dimorphism in insects of medical importance using geometric morphometrics. In this study was used 80 wing structures (males, n = 40 females, n = 40) as a morphologic marker to determine sexual dimorphism in *Ae. aegypti*. Configurations coordinates (x, y) were recorded from 19 Landmarks and lined by a Generalised Procrustes analysis. Discriminant analysis (AD) was performed to test differences in wing shape of each individual group (male or female), and Kruskal-Wallis test to determine differences in the isometric size (CS) according

to sex. Significant differences from the wing shape ($P < 0.0001$) and isometric size ($P < 0.001$) were obtained. The main differences were observed in the Landmarks located in the middle region of the wing. The results confirm that in culicids, the phenotypic expression of wing shape is specific according to sex and suggest that the pattern of venation of the wing structure, especially the middle region provides an important set of Landmarks for geometric analysis, which could be considered to determine sexual dimorphism in *Ae. aegypti*.

Keywords: Dengue, vectors, Aedini, shape, centroid size.

INTRODUCCIÓN

Las hembras de Culicidae son vectores de distintos patógenos: Dengue (DENV), Encefalitis, Virus del Nilo, Malaria, entre otros. En particular, DENV es considerado el arbovirus más importante a nivel mundial, se manifiesta en varias formas clínicas comúnmente conocidas como Fiebre de Dengue y Fiebre de Dengue Hemorrágico (Quintero y Martínez-Gutiérrez, 2010). La propagación de DENV se encuentra vinculada con la presencia de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762), un mosquito nativo de la región Etiópica que actualmente ocupa las regiones tropicales y subtropicales (Mousson, 2005), e importante vector de otras arbovirosis: Fiebre Amarilla, Mayaro y Chikungunya. Las fases preadultas están asociadas a criaderos artificiales, ubicados en el domicilio y peridomicilio de las viviendas en las zonas urbanas y rurales. Debido a la ausencia de métodos de inmunización o terapia masiva para el control del DENV, se ha establecido que el manejo y prevención, dependen principalmente del control de los mosquitos vectores o la interrupción del contacto humano vector (OMS, 2009). En este sentido, determinar dimorfismo sexual es de especial importancia, considerando que sólo las hembras presentan hábitos hematófagos y capacidad vectorial para propagar el virus. En insectos, las diferencias entre machos y hembras, se basa principalmente en caracteres como el tamaño del cuerpo, piezas bucales, antenas y genitalia. Sin embargo, estas estructuras representan caracteres cuantitativos de difícil caracterización. Una alternativa para el estudio de las variaciones morfológicas que ocurren en estos caracteres, es la Morfometría Geométrica, una disciplina que proporciona análisis robustos y herramientas gráficas para la cuantificación y visualización de la variación geométrica que posee una estructura biológica (Rohlf y Marcus, 1993; Adams *y col.*, 2004). Diversas investigaciones han demostrado la importancia de la geometría alar para describir dimorfismo sexual en insectos de importancia médica (Eritja, 1996; Aldana *y col.*, 2011; Börstler *y col.*, 2014; Virginio *y col.*, 2015). Estas consideraciones se deben principalmente a que el patrón de venación alar proporciona regiones anatómicas bien definidas, que permiten el análisis de sus proporciones métricas y de conformación, a través de herramientas morfométricas (Dujardin *y col.*, 2003). Por ello el presente estudio propone el uso de la conformación alar como marcador morfológico para determinar dimorfismo sexual en *Ae. aegypti*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares de *Ae. aegypti* fueron obtenidos a través de la recolección de sus estados inmaduros en el Campus de la Universidad de Carabobo (Hernández *y col.*, 2015), y su posterior cría en el Animalario del Departamento de Biología. FACYT-UC. Se fotografiaron un total de 80 Estructuras alares (Hembras, n=40; Machos, n=40). El sexo de cada individuo fue determinado observando la morfología del segmento flagelar de las antenas. Se disectó el ala derecha desde la unión de la porción basal articulada del tórax y se fijó en una lámina portaobjetos. Con programa TPSDig (Rohlf, 2008) se digitalizaron (Figura 1) 19 Puntos Anatómicos de Referencia (PAR), correspondientes con el tipo I y II de acuerdo a Bookstein (1991): PAR1 final de la subcosta (Sc); PAR2 final de Radial 1 (R1); PAR3 final de Radial 2 (R2); PAR4 final de Radial 3 (R3); PAR5 final de Radial 4+5 (R4+5); PAR6 final de Medial 1 (M1); PAR7 final de Medial 2 (M2); PAR8 final de Medial 3+4 (M3+4); PAR9 final de Cubital (CU); PAR10 final de Anal (A); PAR11 Alula (A); PAR12 intersección entre CU y M3+4; PAR13 intersección entre m-cu y M3+4; PAR14 intersección entre m-cu y M; PAR15 intersección entre M1+2 y M3+4; PAR16 intersección entre r-m y M; PAR17 intersección entre r-m y R4+5; PAR18 intersección entre Rs y R3; PAR19 intersección entre R2 y R3.

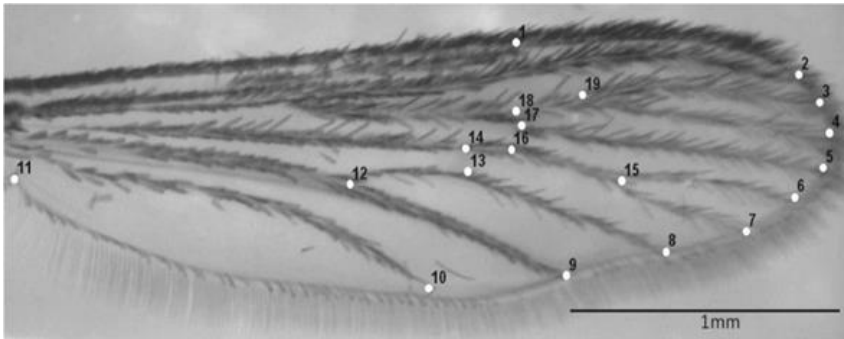


Figura 1. Ala de *Aedes (Stegomyia) aegypti* mostrando la disposición de los puntos anatómicos de referencia (PAR1-PAR19).

Los PAR seleccionados generaron una matriz de coordenadas (x-y) que representan las configuraciones geométricas de cada estructura alar. A partir esta matriz se realizó un Análisis Generalizado de Procrustes con el programa MorphoJ (Klingenberg, 2011) donde la variación asociada a los efectos de posición, orientación y escala es eliminada mediante una superposición procrustes. A partir de las coordenadas ajustadas se generaron dos nuevas matrices correspondientes a las variables de

conformación alar (partial warps = Pw) y al estimador tamaño isométrico (CS); éste se obtiene al calcular la raíz cuadrada de la suma de las distancias, elevadas al cuadrado, desde cada punto anatómico al centroide (Bookstein, 1991). Con la matriz de Pw se realizó un Análisis Discriminante (AD) y una prueba Hotelling. La matriz con los valores de CS se analizó en PAST (Hammer y Harper, 2011), mediante la prueba de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), con corrección de Bonferroni, para determinar si existían diferencias significativas en el CS de la estructura alar de acuerdo al sexo.

RESULTADOS

El tamaño isométrico de la estructura alar, reveló diferencias significativas ($X^2 = 55,901$ gl = 1, $P < 0,001$), con hembras de mayor talla ($3,391\text{mm} \pm 0,034$) que los machos ($2,705\text{mm} \pm 0,026$). En el histograma del Análisis Discriminante se observa (Figura 2A) la separación significativa (Hotelling $T^2 = 1434,79$ $P < 0,0001$; distancia Mahalanobis = 8,469 y Procrustes = 0,061) entre machos y hembras a partir de la conformación alar. La validación por grupo, mostró una reclasificación del 97.5% para las configuraciones alares de las hembras y del 100% para las correspondiente a los machos. La función de interpolación de placas de deformación, permitió inferir las diferencias en conformación de la estructura alar como deformaciones de los 19 PAR (Figura 2B), en una rejilla calculada con respecto a la configuración consenso. Los principales cambios se observaron en el PAR 1, con un desplazamiento en sentido diagonal hacia la vena R1. Los PAR 9 y 10 presentaron desplazamientos en sentido diagonal ascendente hacia la región proximal, mientras que los PAR del 13 al 19 se desplazaron en sentido diagonal hacia el extremo distal del ala.

DISCUSIÓN

Los análisis del CS y conformación alar permitieron la separación significativa entre machos y hembras, demostrando la utilidad de la estructura alar como carácter morfológico para determinar dimorfismo sexual en adultos de *Ae. aegypti*. En nuestro estudio, las diferencias asociadas al CS de la estructura alar corresponde con hembras de mayor proporción que los machos, resultados similares fueron evidenciados en *Culex quinquefasciatus* y *Aedes albopictus* (Vidal y col., 2011; Vidal y col., 2012). En las hembras, la importancia del tamaño corporal ha sido determinada a través de su relación con diferentes indicadores de capacidad vectorial. Nasci (1986), reportó relaciones positivas entre el tamaño y la frecuencia de ingesta sanguínea en *Ae. aegypti*. Armbruster y Hutchinson (2002), observaron un incremento de la fecundidad en relación a la longitud del ala en hembras de *Ae. albopictus* y *Aedes geniculatus*. El tamaño

corporal en hembras vectoras también ha sido relacionado con la longevidad, supervivencia y la susceptibilidad a infección por patógenos (Kittayapong *y col.*, 1992; Alto *y col.*, 2008; Xue *y col.*, 2010).

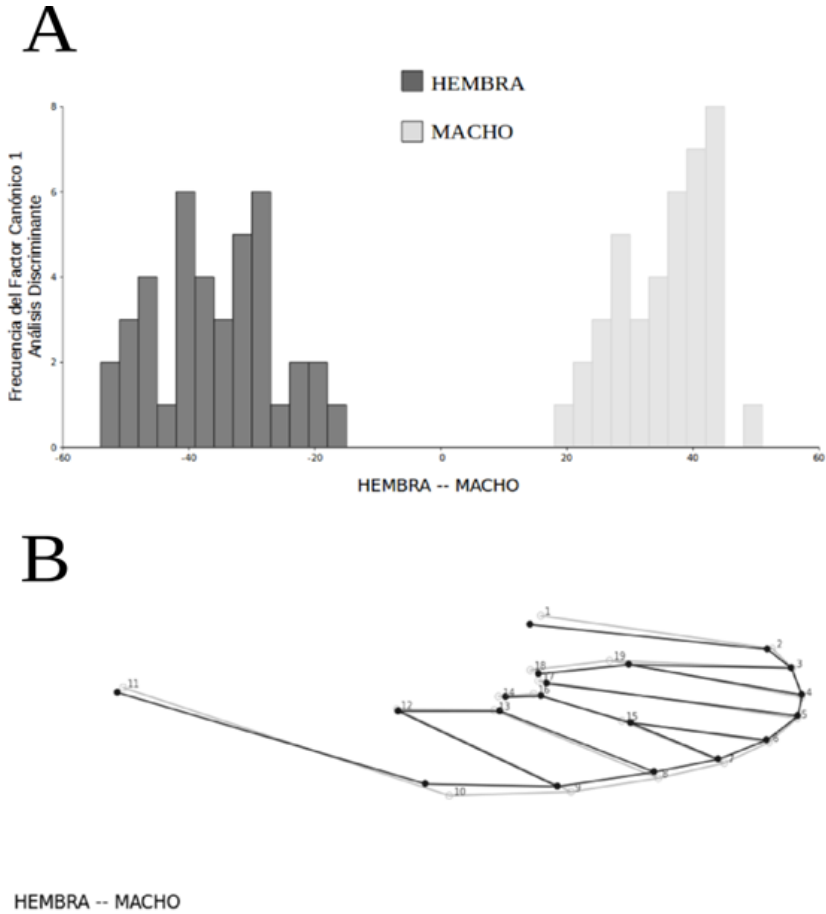


Figura 2. (A) Histograma de frecuencia del primer eje canónico del Análisis Discriminante para los 80 ejemplares de *Aedes (Stegomyia) aegypti*. (B) Diagrama de deformación mostrando diferencias entre conformaciones promedio de *Aedes aegypti* hembras y machos.

Las diferencias en la conformación alar de acuerdo al sexo que fueron determinadas en *Ae. aegypti*, también ha sido evidenciada en diversos mosquitos de importancia médica (Devicari *y col.*, 2011; Vidal *y col.*, 2011;

Virginio *y col.*, 2015). Estas diferencias podrían estar asociadas con las bases poligénicas de la forma alar en culicidos, la cual explica que la expresión fenotípica de este carácter está determinada por loci genéticos cuantitativos (Jirakanjanakit *y col.*, 2007, Dujardin, 2008, Morales-Vargas *y col.*, 2010). Las complejas interacciones dentro de este conjunto poligénico, con diversos genes que participan en la expresión de la configuración alar, podrían causar un efecto aditivo y diferencial sobre el fenotipo de la estructura alar en machos y hembras, que será heredable y poco afectado por factores epigenéticos (Roff, 1986; Weber *y col.*, 1999; Carreira *y col.*, 2011).

Con relación a los cambios de conformación, los principales desplazamientos fueron observados en los PAR del 13 al 19, los cuales corresponden con las intersecciones entre las venas medias y radiales (Figura 2B). Observaciones similares fueron realizadas por Devicari *y col.*, (2011) y Virginio *y col.*, (2015), quienes lograron una clara discriminación entre mosquitos machos y hembras, empleando PAR localizados en estas zonas. Estos resultados sugieren que el patrón de venación de la estructura alar, en especial la región media proporcionan un importante conjunto de PAR para el análisis geométrico, que podría considerarse para determinar cambios morfológicos asociados a dimorfismo sexual en *Ae. aegypti*.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer al comité organizador del “Primer Encuentro Venezolano de Métodos de Cuantificación Morfológica” por la invitación a participar en este evento, también a los árbitros anónimos por sus valiosos comentarios en mejora del artículo. Este trabajo fue parcialmente financiado por el Departamento de Biología de la Universidad de Carabobo.

LITERATURA CITADA

- Adams, D.C., F.J. Rohlf y D.E. Slice. 2004. Geometric morphometrics: Ten years of progress following the ‘revolution’. *Ital. J. Zool.* 71:5-16.
- Aldana, E., E. Heredia-Coronado, F. Avendaño-Rangel, E. Lizano, J.L. Concepción, R. Bonfante-Cabarcas, C. Rodríguez-Bonfante y M.M. Pulido. 2011. Análisis morfométrico de *Panstrongylus geniculatus* de Caracas, Venezuela. *Biomedica* 31(1):108-17.
- Alto, B.W., M.H. Reiskind y P. Lounibos. 2008. Size Alters Susceptibility of Vectors to Dengue Virus Infection and Dissemination. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 79(5): 688-695.
- Armbruster, P. y R. Hutchinson. 2002. Pupal Mass and Wing Length as Indicators of Fecundity in *Aedes albopictus* and *Aedes geniculatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 39(4): 699-704.
- Bookstein, F.L. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and biology. EEUU. Cambridge Publ., 452pp.
- Börstler, J., R. Lühken, M. Rudolf, S. Steinke, C. Melaun, S. Becker, R. Garms y

- A.Krüger. 2014. The use of morphometric wing characters to discriminate female *Culex pipiens* and *Culex torrentium*. *J Vector Ecol.* 39(1):204-212.
- Carreira, V., I. Soto, J. Mensch y J. Fanara. 2011. Genetic basis of wing morphogenesis in *Drosophila*: sexual dimorphism and non-allometric effects of shape variation. *BMC Developmental Biology.* 11:32.
- Devicari, M., A.R. Lopes y L. Suesdek. 2011. Wing sexual dimorphism in *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae). *Biota Neotrop.* 11(2):165-169.
- Dujardin, J.P. 2008. Morphometrics applied to medical entomology. *Infection, Genetics and Evolution* 8: 875-890.
- Dujardin, J.P., F. Le Pont y M. Baylac. 2003. "Geographic versus interspecific differentiation of sand flies: a landmark data analysis". *Bulletin of Entomological Research* 93:87-903.
- Eritja, R. 1996. Wing Biometry and Statistical Discriminant Analysis as a Technique To Determine Sex of a *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Gynandromorph. *Journal of economic entomology* 89(5):1338-1341.
- Hammer, Ø. y D.A.T. Harper. 2011. PAST: Palaeontological Statistics, versión 2.10. Disponible en: <http://folk.uio.no/ohammer/past>.
- Hernández, M., M. Piña, A. Soto-Vivas, M.A. Rangel y J. Liria. 2015. Primer registro de *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) en el Estado Carabobo, Venezuela. *Salus* 19:39-41.
- Jirakanjanakit, N., W.A.T. Leemingsa, S. Thongrunkiat, S. apiwathnasorn, C. Singhaniyom, C. Bellec C y J.P. Dujardin. 2007. Influence of larval density or food variation on the geometry of the wing of *Aedes (Stegomyia) aegypti*. *Trop. Med. & Intl. Health* 12(11):1354-1360.
- Kittayapong, P., J.D. Edman, B.A. Harrison y D.R. Delorme. 1992. Female body size, parity, and malaria infection of *Anopheles maculatus* (Diptera: Culicidae) in peninsular Malaysia. *J Med Entomol.* 29(3):379-83.
- Klingenberg, C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11:353-357.
- Morales-Vargas, E.R., P. Ya-Umphang, N. Phumala-Morales, N. Komalamisra y J.P. Dujardin. 2010. Climate associated size and shape changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand. *Infect. Genet. Evol.* 10:580-585.
- Mousson, L. C. Dauga, T. Garrigues, F. Schaffner, M. Vazeille y A.B. Failloux. 2005. "Phylogeography of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations," *Genetics Research* 86(1):1-11.
- Nasci, R.C. 1986. The size of emerging and host-seeking *Aedes aegypti* and the relation of size to blood-feeding success in the field. *J Am Mosq Control Assoc.* 2:61-62.
- Organización Mundial de la Salud. 2009. *Dengue: guías para el diagnóstico, tratamiento prevención y control*. La Paz, Bolivia. 170pp.
- Quintero, D. C. y M. Martínez-Gutiérrez. 2010. Competencia vectorial: consideraciones entomológicas y su influencia sobre la epidemiología del Dengue. *Latreia* 23(2) 146-156.
- Roff, D.A. 1986. The Evolution of Wing Dimorphism in Insects. *Evolution* 40 (5):1009-1020.
- Rohlf, J. 2008. TpsDig, Program for Digitalizing morphologic landmark and outlines for Geometric Morphometric Analyses, ver. 2.11. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook. Disponible en: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/index.html>.
- Rohlf, J. y L. Marcus. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecol. & Evol.* 8:129-132.
- Vidal, P.O., E. Carvalho y L. Suesdek. 2012. Temporal variation of wing geometry in *Aedes albopictus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107:1030-4.

- Vidal, P.O., M.C. Peruzin y L. Suesdek. 2011. Wing diagnostic characters for *Culex quinquefasciatus* and *Culex nigripalpus* (Diptera, Culicidae). *Revista Brasileira Entomol.* 55:134-7.
- Virginio, F., P. Vidal y L. Suesdek. 2015. Wing sexual dimorphism of pathogen-vector culicids. *Parasites & Vectors* 8(1):159-167.
- Weber, K., R. Eisman, L. Morey, A. Patty, J. Sparks, M. Tausek y Z.B. Zeng. 1999. An analysis of polygenes affecting wing shape on chromosome 3 in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 153:773-786.
- Xue R.D., D.R. Barnard y G.C. Muller. 2010. Effects of body size and nutritional regimen on survival in adult *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 47(5):778-82.