

UNIVERSIDAD AUTONOMA "GABRIEL RENÉ MORENO"
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
CARRERA DE BIOLOGÍA



**"CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE POBLACIONES
URBANAS Y RURALES DE *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (DIPTERA -
CULICIDAE) UBICADAS EN LOCALIDADES ENDÉMICAS DE DENGUE EN
BOLIVIA".**

**Tesis de grado presentado por:
Nórman G. Valdéz Zamorano
Para optar el título de:
Licenciado en Ciencias Biológicas**

**Santa Cruz – Bolivia
2009**

ÍNDICE

RESUMEN	1
1.- INTRODUCCIÓN	2
2.- OBJETIVOS	4
2.1.- Objetivo General	4
2.2 Objetivos Específicos	4
3.- REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1.- Historia del Dengue	5
3.2.- Aparición del Dengue como un problema mundial de la salud pública	5
3.3.- Factores responsables del aumento de la incidencia	9
3.4.- El Virus	13
3.5.- Ciclo de transmisión	13
3.6.- Vector	14
3.7.- Taxonomía del vector <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i>	15
3.7.1.- Clasificación	15
3.8.- Morfotipo	16
3.9.- Bioecología	16
3.10.- Genética de poblaciones	19
3.10.1.- Equilibrio de Hardy-Weinberg	20
3.10.2.- Desviaciones de Hardy -Weinberg	21
3.10.3.- Variabilidad Genética	22
3.10.4.- Flujo genético	22
3.10.5.- Microsatélites	24
3.11.- Estimación de la estructura poblacional	25
3.11.1.- Distancia genética Equilibrio de Hardy-Weinberg	25
3.11.2.- F-estadístico	25
3.12.- Genética de <i>Aedes aegypti</i>	33

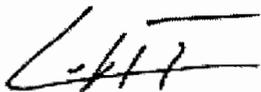
La Tesis de grado "Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia", es presentado por la Universitario Nórman G. Valdéz Zamorano como requisito para optar al grado de Licenciatura en Ciencia Biológicas, en la facultad de ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno.

Este trabajo ha sido revisado, corregido y aprobado por el siguiente Tribunal:



.....
Dr. Jean Pierre Hervé

Asesor



.....
Dr. Gilbert Le Goff

Asesor

.....
Dr. Carmen Bozo

Tribunal

.....
Lic. Eugenia de Bazoli

Tribunal

.....
Lic. Raúl Altamirano

Tribunal

.....
Lic. Ana Maria Mostacedo

Jefe de Carrera de Biología

.....
MSc. Nelson Rodríguez

Decano de la Facultad
Ciencias Agrícolas

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por cada día que me dá y por darme aliento en los momentos difíciles.

A mis papás por el apoyo en todos estos años, a la Universidad Gabriel René Moreno, a los docentes y administrativos de la carrera de Biología, por haberme brindado la formación académica durante los años de estudios.

Quiero agradecer a mis financiadores; en forma muy especial al Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD) que sin su financiamiento hubiera sido difícil de realizar esta investigación, a CENETROP por brindarme apoyo en la logística para la investigación y al equipo técnico de entomología así como a los colaboradores del mismo laboratorio por su respaldo y esfuerzo.

También quiero agradecer en forma muy especial por su gran apoyo a: Mabel Guerra, Zaira Barja, Roman Callata, Yelin Roca, Jimmy Rebollo y a todos mis amigos del laboratorio Mariela Terceros, Liliana Gomez, Fabiola Ibaraki, Eddy Cambará y Daniel Galindo ya que por su apoyo constante pude alcanzar mis metas.

Resumen.

En la presente investigación se analiza al vector de Fiebre del Dengue con un objetivo principal de caracterizar morfológica y genéticamente a *Aedes aegypti* en regiones endémicas del territorio boliviano como son Yungas, Llanos Orientales y Chaco, con datos colectados desde diciembre 2005 a febrero 2008 en las localidades de Santa Cruz de la Sierra, La guardia, Sombrerito, Machareti, Yacuiba, Bagual, Barrial, Palmar, Caiza, Caranivi, Santa Fe y Alcoche.

Los mosquitos fueron colectados mediante encuestas entomológicas. Para el análisis en laboratorio se les extrajo el DNA con el protocolo CTAB 10X para la extracción de DNA de mosquito entero y luego el DNA extraído fue sometido a proceso de PCR para la amplificación del DNA y genotipage de 9 microsatélites, la secuenciación de dichos microsatélites fue realizada en Montpellier-Francia al Laboratorio de LIN (Laboratorio de Insectos Nocivos), una vez secuenciados fueron analizados con GENEPOP® 4, que es un programa genético-poblacional especializado.

En las ecoregiones de Yungas, Llanos orientales y Chaco se encontró poblaciones de *Ae. aegypti* genéticamente distintas pero morfológicamente similares, mostrando un débil flujo genético y una fuerte deriva genética con presencia de alelos privados más en aéreas urbanas que en rurales. Estos resultados se discuten sobre el por qué de estas deferencias, si estas poblaciones son resultado de una sola población infestante y reinfestante o si provienen de de infestaciones de diferentes poblaciones de *Ae. aegypti*.

1. Introducción

La fiebre del dengue (DF) y la fiebre de dengue hemorrágico (FHD) son enfermedades tropicales y sub-tropicales, transmitidas por mosquitos, como consecuencia de la infección con uno de los cuatro antígenos diferentes serotipos del virus dengue (VDEN) de la familia Flaviviridae. (Gubler 1997).

Se estima que entre 50 y 100 millones de nuevas infecciones por dengue se producen anualmente (Gubler 1998), y media de la tasa de mortalidad por dengue hemorrágico oscila entre el 5% al 40% (Tassniyom 1993).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS 1995), después de la erradicación del *Ae. aegypti* en 18 países de las Américas hacia finales de la década de los 40, este vector vuelve a recolonizar el continente a finales de la década del 70 y en 1995 presentó una distribución geográfica similar a la del año 1940.

Gubler (1998) advierte que los factores responsables del resurgimiento del dengue como un problema de salud pública son complejos y se encuentran estrechamente asociados a cambios sociales y demográficos (como las migraciones de la zona rural a la urbana), en los últimos cincuenta años.

El crecimiento global de la población, asociada a la urbanización no planificada y descontrolada, especialmente en países tropicales en vías de desarrollo, originó viviendas precarias, hacinamiento, deterioro en los sistemas de suministros de agua, red de desagüe y tratamiento de desperdicios, elevó el número de criaderos potenciales del *Ae. aegypti* creando las condiciones ideales para el incremento de enfermedades transmitidas por estos mosquitos (Tauil 2001).

De hecho, *Ae. aegypti*, es el principal vector de VDEN, es una especie que se incluyen dos subespecies diferentes en su morfología, la ecología, la etología, y genética (Marquetti MC 2000: Aguilera 2000), i) *Ae. aegypti aegypti*, de color claro, prefiere entornos peri domésticos y se produce en el Nuevo Mundo, Asia, y en las zonas costeras de África oriental, ii) *Ae. aegypti formosus*, una forma oscura que se reproduce en agujeros de árboles y, a veces, agujeros en la roca, y se encuentra principalmente en el sub-Sahara África.

Ae. aegypti es una especie autóctona de África que llegaron a las Américas a bordo de los buques de esclavos, luego se estableció y se propagó por todo el Nuevo Mundo en el Siglos XVII y XVIII (OPS 1995). En la década de 1950, todos los países de las Américas, excepto Canadá donde no se registró la presencia de *Ae. aegypti*.

Se ha demostrado experimentalmente que la susceptibilidad y la capacidad de *Ae. aegypti* para transmitir VDEN son variables y dependen sobre el origen geográfico de las poblaciones (Gubler 1979). A diferencia en la sensibilidad a la infección también se ha observado entre *Ae. aegypti* hembras de la misma progenie (Tardieux.1990).

En Bolivia, se observaron variaciones morfológicas y etológicas entre las poblaciones de *Ae. aegypti*, relacionados con su localización geográfica y el tipo de hábitat. La forma selvática carece de registros en nuestro país.

Aedes aegypti coloniza contenedores artificiales de agua, contenedores de almacenamiento de agua (es decir, jarras de arcilla, barriles metálicos), así como los contenedores abandonados (es decir, latas, botellas de plástico, neumáticos usados) y es muy antropofílico (Pérez O 2004).

La genética variabilidad de *Ae. aegypti* en las Américas ha probablemente sido reducido en gran medida a causa de un efecto cuello de botella durante su introducción y la presión selectiva resultante de un fuerte control de los vectores de la política que se centró principalmente en el *Ae. aegypti* control de manera similar a lo que ocurrió a los mosquitos *Anopheles* en América Central y del Sur (Donnelly *et. al.*,2002).

2. Objetivos:

2.1. Objetivo general:

Caracterizar morfológica y genéticamente las poblaciones de *Aedes aegypti* ubicadas en localidades urbanas y rurales de Bolivia a través de la observación de las características morfológicas y el uso de marcadores microsatélites para su posterior comparación entre Ecoregiones.

2.2. Objetivos específicos:

i) Determinar los indicadores fenotípicos más relacionados a la morfología externa de los mosquitos adultos.

ii) Identificar indicadores moleculares del ADN nuclear, por medio de marcadores microsatélites y búsqueda de alelos particulares o específicos.

iii) Evidenciar la variabilidad y diversidad genética de 3 poblaciones de *Aedes aegypti* (Yacuiba-Santa Cruz y en los Yungas) a través del polimorfismo genotípico, para su posterior comparación entre poblaciones rurales y urbanas.

3. Revisión bibliográfica

3.1. Historia del Dengue.

Aunque los primeros informes de grandes epidemias de la fiebre del dengue se produjeron en los continentes (Asia, África y América del Norte) en 1779 y 1780 (Hirsch 1883, Howe 1977, Pepper 1941, Rush 1789) se piensa que esta enfermedad sería mucho más antigua puesto que hay informes de enfermedades clínicamente compatible con la fiebre dengue.

El primer registro encontrado hasta la fecha se encuentra en una enciclopedia china así como los síntomas de la enfermedad y los tratamientos, publicado por primera vez durante la dinastía Chin (265 a 420 dC) y editado oficialmente en el 610 dC (Dinastía Tang) y de nuevo en 992 A.D. (Dinastía Sung del Norte) (Nobuchi, 1979). La enfermedad fue denominada como "agua venenosa" por los chinos y se cree que de alguna manera estaba relacionadas con insectos voladores que se encontraban en el agua.

Los brotes de enfermedad en las Antillas francesas en 1635 y en Panamá en 1699 también podrían haber sido de dengue (Howe, 1977, McSherry, 1982). Así, dengue u otra enfermedad muy similar tuvo una amplia distribución geográfica antes del siglo 18.

No está claro si las epidemias en Batavia (Yakarta), Indonesia, y El Cairo, Egipto, en 1779 fueron dengue, pero es bastante probable que la epidemia de Filadelfia de 1780 fuera el dengue (Carey, 1971). Un examen más detallado de la historia de los virus del dengue ha sido recientemente publicado (Gubler, 1997).

3.2. Aparición del Dengue como un problema mundial de la salud pública.

El patrón de enfermedades asociadas con la enfermedad del dengue como en 1780 a 1940 se ha caracterizado por ser relativamente poco frecuentes. Sin embargo, es probable que el virus de dengue se convirtió en endémico en muchos centros urbanos tropicales durante este tiempo, porque durante los períodos interepidémico, cuando no había aparente transmisión de la enfermedad, los visitantes no inmunes siempre contraían dengue o una enfermedad similar a unos meses de su llegada.

La perturbación ecológica en el Sudeste de Asia y el Pacífico escenas durante y después de la Segunda Guerra Mundial creó condiciones ideales para una mayor distribución de mosquitos y transmisión de la enfermedad, es en este contexto que una pandemia mundial de dengue comenzó.

Con el aumento de la transmisión de epidemia a hyperendemia (la cocirculación de múltiples serotipos del virus dengue) desarrollado en el sudeste de Asia y ciudades con epidemia de fiebre dengue hemorrágico (FHD), se describe una nueva enfermedad (Gubler, 1988, Gubler, & Trent. 1994, Halstead, 1980, Halstead, 1992).

La primera epidemia conocida de dengue hemorrágico se produjo en Manila, Filipinas, en 1953 a 1954, pero después de 20 años, la enfermedad en forma de epidemia se ha propagado en todo el Sudeste Asia; a mediados de 1970, el dengue hemorrágico se ha convertido en una de las principales causas de hospitalización y muerte entre los niños en la región (Anónimo. 1986).

En el decenio de 1970, el dengue volvió a las Islas del Pacífico y allí desarrollo actividad epidémica en las Américas. Durante los años 1980 y 1990, transmisión del dengue se intensificó, y hubo un resurgimiento mundial de la fiebre del dengue, con la ampliación de la distribución geográfica de los mosquitos vectores y los virus, aumento en la incidencia de la enfermedad causada por un aumento de la frecuencia de transmisión, y la aparición de dengue hemorrágico en muchos países nuevos (Gubler, 1987, 1993, 1994, 1995, 1997, Halstead, 1980, 1992, Pinheiro, 1989, 1997, Rosen, 1982).

En Asia, la epidemia de dengue hemorrágico se ha expandido geográficamente de Países del sudeste asiático oeste a la India, Sri Lanka, las Maldivas, y el Pakistán y el este de China (Gubler, 1998). Varias islas del Sur y Central del Pacífico (Niue, Palau, Yap, Islas Cook, Tahití, New Caledonia y Vanuatu) han experimentado grandes o pequeñas epidemias de dengue hemorrágico (Gubler, 1997). Cambios epidemiológicos en las Américas siendo los más dramáticos.

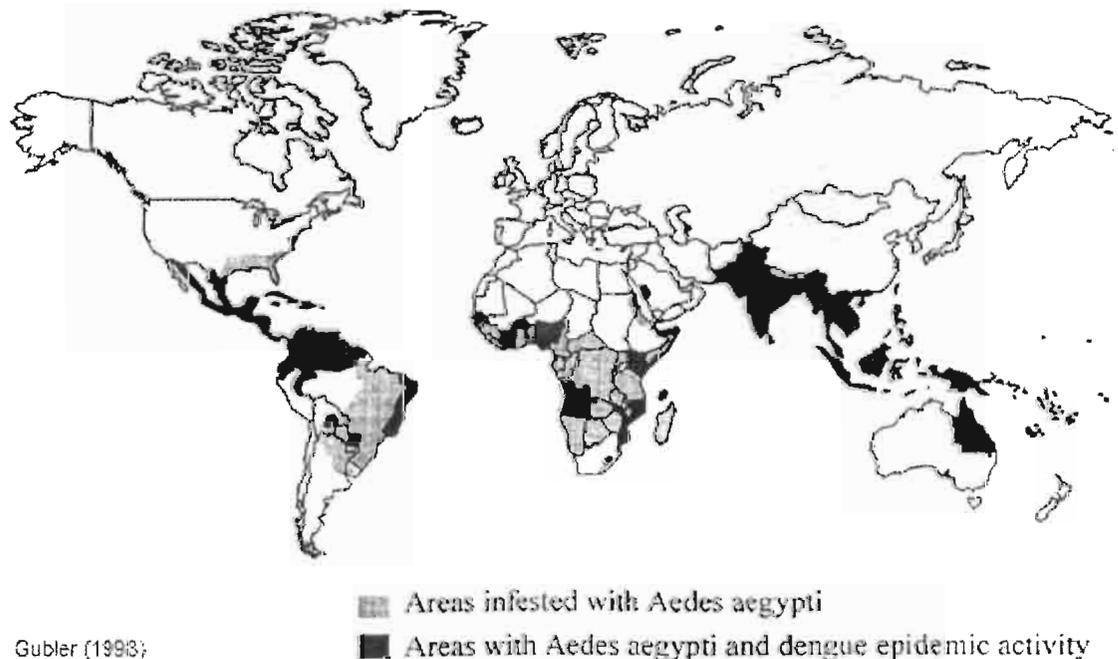
En los años 1950, 1960 y la mayor parte de la década de 1970, la epidemia de dengue fue rara en la región de América debido a que el principal mosquito vector, *Aedes aegypti*, fue erradicado en América Central y del Sur (Gubler, 1987, 1989, Pinheiro, 1989).

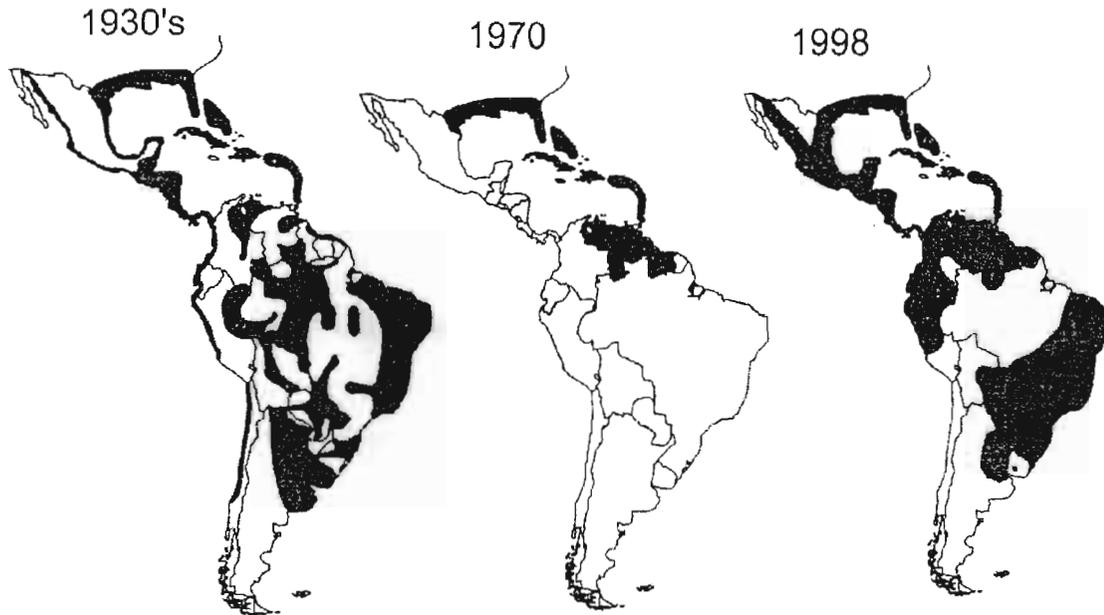
El programa erradicación se suspendió a principios del decenio de 1970, entonces esta especie comenzó a reinvasión los países de los cuales se había erradicado (Gubler, 1989, Pinheiro, 1989). En el decenio de 1990, *Ae. aegypti* casi había recuperado la distribución geográfica que tenía antes de la erradicación.

La epidemia de dengue siguiendo de la re infestación de *A. aegypti* fue invariable en los países. En la década de 1980, la región americana experimentó grandes epidemias de dengue en los países que habían estado libres de la enfermedad de 35 a 130 años (Gubler, 1987. - 1989, Pinheiro, 1997).

Nuevas cepas de virus dengue y los serotipos fueron presentados (DEN-1 en 1977, una nueva cepa del serotipo DEN-2 en 1981, DEN-4 en 1981, y una nueva cepa del serotipo DEN-3 en 1994).

Además, muchos países de la región evolucionaron de no endémicos (sin enfermedades endémicas) o hypoendemicos (un serotipo presente) a hyperendemicos (múltiples serotipos presentes), la epidemia de dengue surgido mucho después que en el sudeste de Asia 25 años antes (Gubler, 1987 - 1989). De 1981 a 1997, 24 países de América confirmados mediante pruebas de laboratorio de dengue hemorrágico (Gubler, 1998, Pinheiro, 1997).





Mapa comparativo de distribución de *Ae. aegypti* en las Américas antes, durante y después de la erradicación. Gubler (1998).

Mientras que África aún no había tenido una importante epidemia de dengue hemorrágico (DH), se habían producido casos esporádicos, con un aumento de epidemia de fiebre dengue en los últimos 15 años. Antes de la década de 1980, poco se sabía de la distribución de virus del dengue en África. Desde entonces, grandes epidemias causadas por los cuatro serotipos se han producido tanto en África oriental como occidental (Gubler, 1994 - 1997).

Los brotes han sido más comunes en el Este de África y el Medio Oriente en la década de 1990, con grandes epidemias en Yibuti en 1991 y en Jeddah, Arabia Saudita, en 1994, ambos fueron los primeros brotes en más de 50 años (Gubler, 1997, Rodier, G. 1995).

En 1997, el virus Dengue y los mosquitos *A. aegypti* tienen una distribución a nivel mundial en los trópicos (Fig. 3); más de 2,5 millones de personas viven actualmente en zonas donde el dengue es endémico (Gubler, 1994-1995-1998, Halstead, 1980-1992).

Actualmente, la fiebre del dengue causa más enfermedad y muerte que cualquier otra enfermedad producida por arbovirus en los seres humanos (Rosen, 1982). Cada año, un estimado de 100 millones de casos de dengue y varios cientos de mil casos de dengue

hemorrágico se producen, dependiendo de la actividad epidémica (Gubler, 1995 1998, Monath, 1994). DH es una de las principales causas de hospitalización y muerte entre los niños en muchos países del sudeste asiático (Anónimo. 1986).

3.3. Factores responsables del aumento de la incidencia (Gubler 1998)

Los factores responsables de la dramática aparición y resurgimiento de epidemias de dengue y de DH, respectivamente, como un problema mundial de salud pública en los últimos 17 años, son complejas y no se entienden plenamente.

Sin embargo, el resurgimiento parece estar estrechamente relacionado con la demografía y los cambios sociales en los últimos 50 años (Gubler, 1987, 1994, 1997, 1998). Dos factores principales han sido asociados al sin precedentes crecimiento no planificado de la población mundial y la urbanización descontrolada, especialmente en los países tropicales en desarrollo.

La calidad inferior de la vivienda, hacinamiento y deterioro del agua, alcantarillado y un sistemas de gestión residuos relacionados con la urbanización no planificada han creado las condiciones ideales para una mayor distribución de mosquitos y transmisión de enfermedades tropicales en los centros urbanos.

Un tercer factor importante ha sido la falta de control efectivo de mosquitos en las zonas donde el dengue es endémico (Gubler, 1987, 1989, 1994, 1998). El énfasis durante los últimos 25 años ha sido la fumigación sobre el espacio con insecticidas para matar los mosquitos adultos, lo que no ha sido eficaz (Gubler, 1989, Newton, 1992, Reiter & Gubler. 1997) y de hecho, ha ido en detrimento la prevención y control con los esfuerzos por brindar a los ciudadanos de la comunidad y funcionarios de gobierno una "falsa sensación de seguridad" (Gubler, 1989).

Además, la distribución geográfica y la densidad poblacional de *A. aegypti* se han incrementado, especialmente en las zonas urbanas de los trópicos, a causa de un mayor número de hábitats para larvas de mosquitos en el entorno doméstico. Estos últimos incluyen plásticos no biodegradables y neumáticos de automóviles usados, tanto de que han aumentado de manera espectacular en la prevalencia durante este período.

Un cuarto factor responsable de la aparición mundial de el dengue y dengue hemorrágico es el aumento de los viajes por vía aérea, que prevé el mecanismo ideal para el transporte de dengue a otras zonas urbanas entre los centros de población del mundo (Gubler, 1987, 1994, 1996, 1998).

Por ejemplo, en 1994, se estima que 40 millones de personas partieron de los Estados Unidos por vía aérea, más del 50% de los cuales viajaron para estancias de negocios o de vacaciones a países tropicales donde el dengue es endémico.

Muchos viajeros se infectan durante su visita a zonas tropicales, se enferman pero sólo después de que regresan a sus hogares, lo que resulta en una constante circulación del virus Dengue en los seres humanos infectados a todas las zonas del mundo y garantizar la introducción de repetidas o nuevas cepas y serotipos en áreas donde el mosquito vector está presente (Gubler, 1996., Rigau-Pérez, 1994).

Un quinto factor que ha contribuido al resurgimiento de la epidemia de dengue ha sido la decadencia de las infraestructuras de salud pública en la mayoría de los países en los últimos 30 años. La falta de recursos ha llevado a una escasez crítica de especialistas formados que pueden comprender y desarrollar programas eficaces de prevención y control para las enfermedades transmitidas por vectores.

Para el año 2002, 37 países de América Central , del Sur y el Caribe informaron de la transmisión del dengue, de los cuales 21 casos notificados de tipo hemorrágico y 14 casos fatales. Los países más afectados son Brasil, Colombia, Honduras, Venezuela. (Guzmán 1999)

El virus dengue tipo 1 se introdujo a Brasil en 1986 produciendo brotes en varios estados (Nogueira, R.M. 1990). En agosto de 1987 hizo su primera aparición en Santa Cruz-Bolivia, donde la tasa de infestación por *Aedes aegypti* fue de más del 20% (Tórriz, 2008).

En ese primer brote de dengue de Bolivia, el único serotipo aislado en células de mosquito C6/36 de la CDC (Lanciotti, R.S. 1996) era el virus del Dengue tipo 1, que lleva el mismo genotipo que el aislado en Brasil. Ningún caso de dengue hemorrágico ni muertes se informó oficialmente en Bolivia.

Debido a la falta de diagnóstico y capacidades en Bolivia se informaron 6841 casos clínicos, (Pinheiro, 1989), la WHO estima que el número real de personas infectadas por el virus fue de más de 200000 (50% de la población en Santa Cruz en ese momento).

En los siguientes 9 años, no se informó existencia de casos de dengue, si bien no es razón para creer que el virus no estaba presente, en particular, debido al exceso de casos notificados de infección Mayaro, en la ciudad (nunca demostrado laboratorialmente) (Peredo 1999).

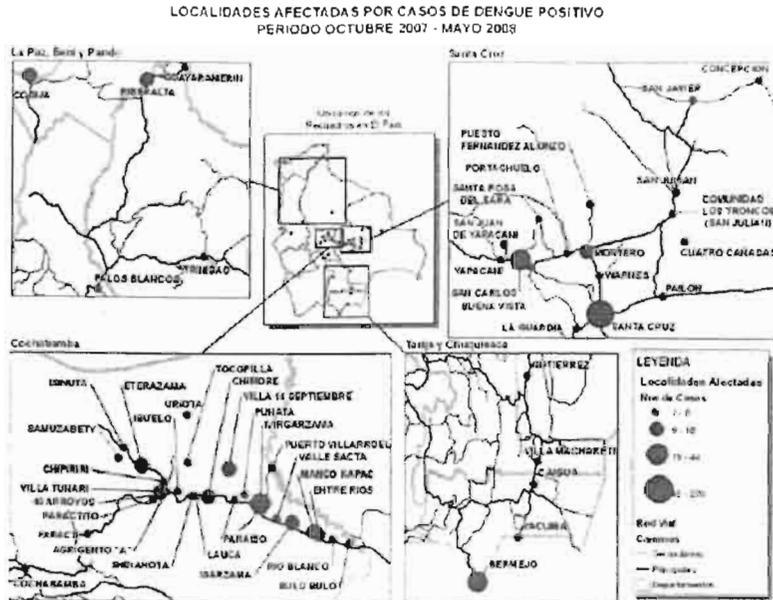
En marzo de 1996, el Centro Nacional de Enfermedades Tropicales (Cenetro) estableció la prueba serológica (Mac Elisa) para empezar a comprobar estos supuestos casos de Mayaro en varios centros de salud diseminados en toda la ciudad (Peredo 1999).

De 238 muestras con compatibilidad de síntomas clínicos para dengue fueron tratados en ese año, 55 (23,1%) eran de hecho Dengue y la tasa de infestación por *Aedes aegypti* era de 18% en la ciudad. En 1997, el número de sueros procesados hasta agosto fue de 489 con 221 positivos (45,2%). La IgMs fueron detectados en pacientes de Santa Cruz de la Sierra, Cotoca, Porongo, Montero, El Torno, Minero, Roboré y San Ignacio todos en Santa Cruz Estado (Peredo 1999).

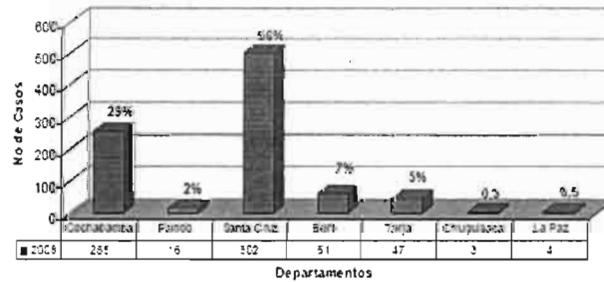
Debido a la falta de capacidad para hacer el aislamiento del virus en cultivo de tejidos y RT-PCR en el momento, 14 sueros fueron enviados a la CDC y la Fiocruz. Ambos lugares fueron capaces de aislar el virus del dengue tipo 2 en 4 sueros (28,6%) (Peredo C. 1999).

El genotipo resultó ser Jamaica que es conocida por haber causado dengue hemorrágico en los países donde se ha detectado (Gubler, 1996).

SITUACION EPIDEMIOLOGICA DE DENGUE BOLIVIA, OCTUBRE - 2007 - MAYO - 2008



Casos confirmados de Dengue por departamento
Octubre, 2007 - Mayo, 2008



Fuente: CENETROP * Informe a Mayo, 16 de 2008

En resumen, los cambios demográficos y sociales, la disminución de recursos para el control enfermedades infecciosas transmitidas por vectores y la prevención y los cambios en la política de salud pública han contribuido a una mayor actividad epidémica de dengue, el desarrollo de hiperendemicidad y la aparición de la epidemia de dengue hemorrágico.

3.4. El Virus

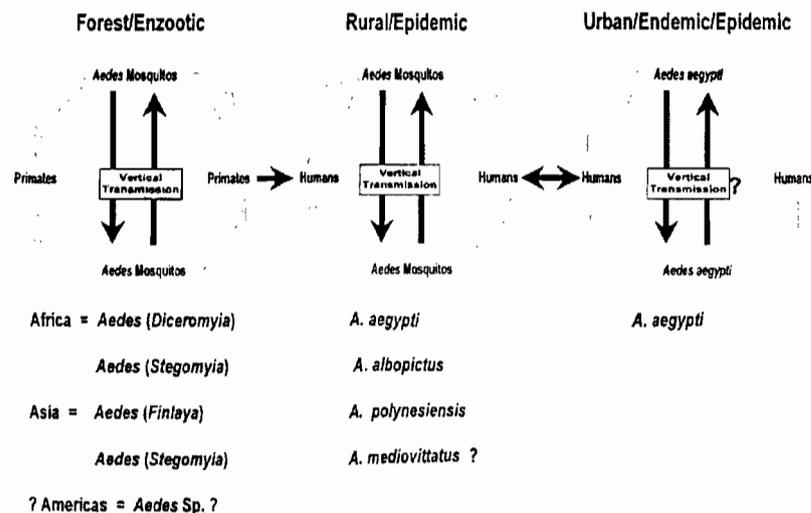
Existen cuatro serotipos del virus Dengue, llamado DEN-1, DEN - 2, DEN-3 y DEN-4. Ellos pertenecen al género *Flavivirus*, la familia *Flaviviridae* (de los cuales el virus de la fiebre amarilla es la especie tipo), que contiene aproximadamente 70 virus (Westaway & Blok. 1997).

Los Flavivirus son relativamente pequeños (40-50 nm) y esféricos con una dotación de lípidos. El genoma de *Flavivirus* es de aproximadamente de 11.000 pares de bases de longitud y se compone de tres estructurales y siete no estructural proteínas.

La infección con un serotipo de dengue proporciona inmunidad para toda la vida para ese serotipo, pero no hay inmunidad a los demás serotipos. De este modo, las personas que viven en una zona endémica de dengue puede estar infectada con tres, y probablemente cuatro serotipos de dengue durante su vida (Gubler, 1988).

3.5. Ciclos de Transmisión

La primitiva transmisión enzoótica del ciclo de virus del dengue implica al dosel de los árboles donde los mosquitos *Aedes* viven y la disminución de los primates en las selvas tropicales de Asia y África (Gubler, 1988). Las pruebas actuales indican que estos virus no suelen salir del bosque a las zonas urbanas (Morens, 1987). Un ciclo de transmisión epidémico puede ocurrir en las aldeas rurales o islas, donde la población de seres humanos es pequeña. Introduciéndose rápidamente el virus infecta a la mayoría de individuos susceptibles de estas áreas, y luego cada vez más inmunidad a estos hace que el virus desaparezca de la población.



3.6 Vector

Una serie de *Aedes (Stegomyia)* spp. puede actuar como un vector en estas situaciones, dependiendo de la zona geográfica, incluidos los *A. aegypti*, *A. albopictus*, *A. polynesiensis* y otros miembros del grupo *A. scutellaris* (Gubler, 1988). Lo más importante en el ciclo de transmisión desde una perspectiva de salud pública es el punto de vista urbano del ciclo endémico o epidémico en los grandes centros urbanos de los trópicos. El virus se mantiene en el ciclo *A. aegypti* - hombre - *A. aegypti* con epidemias periódicas. A menudo, múltiples virus o serotipos cocirculantes en la misma ciudad (hiperendemicidad). Los seres humanos están infectados con el virus del dengue por la picadura de un mosquito infeccioso (Gubler, 1988).

3.7 Taxonomía del vector *Aedes (Stegomyia) aegypti*

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Díptera

Familia: Culicidae

Subfamilia: Culicinae

Género: *Aedes*

Subgénero: *Stegomyia*

Especie: *Aedes aegypti* (Linneaus)

3.7.1 Clasificación

La forma tipo de *A. aegypti*, tal como se define por Mattingly (1957) con una descripción detallada de la Neotype (Mattingly, 1965) sirve como un punto de referencia para esta misma variable especies.

La subespecie *formosus*, tal como se define Mattingly (1957) representa un extremo en el rango de variación de *A. aegypti* que, si bien es frecuente en África al sur del Sáhara, es raro como una población pura. El comportamiento selvático atribuido a esta subespecie es característica de las poblaciones con una amplia gama de variación morfológica, pero es claramente correlacionado con el patrón de escamas oscuras.

La tercera forma *var. queenslandensis* abarca una parte desproporcionada de lo que es evidentemente un rango continuo de variación en el patrón de escamas de *Ae. aegypti*.

El uso de la taxonomía y etiquetas *formosus* y *queenslandensis* tienden a preservar un inflexible concepto de la especie *Ae. aegypti*, que no coincide con el observado ecológicamente y la plasticidad genética. Se recomienda que el uso de estos términos se reduzca a menos que pueden ser claramente definidos en un sentido biológico.

3.8 Morfotipo

McClelland (1960), Senevet & Andarelli (1961) emplearon una clasificación arbitraria donde participaron 11 grados como patrones de los terguitos abdominales. Las series oscilaron entre un grado de la definición de *ssp. formosus* (serie F) con ausencia de escamas claras en el primer tergito y en ninguno, pero con bandas basal-laterales y manchas claras en el resto de tergitos, hasta con una franja ininterrumpida de escamas medianamente pálidas en todas los tergitos (grado Q, para *var. queenslandensis*) casi completamente pálido (grado R).

McClelland (1971) puso de manifiesto que el patrón de 11 grados es insuficiente para describir la gama de variación observada. El sistema fue ampliado a 30 patrones básicos que complementa la M a Q carta grados con dígitos para indicar el número de tergitos (excepto la primera) Manchado o salpicado con escamas pálidas.

Debido a que el patrón básico 30 grados no pueden ser fácilmente dispuestos en una secuencia lineal de palidez creciente, un equivalente numérico se define de modo que las características de la población podría presentarse como distribuciones de frecuencia.

Al terguito sin escamas pálidas distintas de la banda basal o lateral es marcado cero, si el tergito es salpicado o manchado con escamas pálidas se le dio un punto, si el tergito es pálido medialmente con al menos una línea contigua de escamas pálidas donde la banda basal se une al margen apical se anotó dos puntos. Un adicional de un punto fue añadido en todos los casos a evitar la puntuación de cero que se derivarían de la categoría del patrón F y causa dificultades en los datos transformación. La suma de esto puntos de los siete tergitos constituye el valor patrón (PV), que oscila entre el 1-15.

3.9 Bioecología de *Aedes aegypti*.

El mosquito *Ae. aegypti* se ubica en el Orden Díptera, dentro del Suborden Nematóceras se incluye en la Familia Culicidae, donde se encuentran todos los mosquitos. Su género es *Aedes*, el subgénero *Stegomyia* y la especie *aegypti*, descrita por Linneaus hace varios siglos (Fernández 1999).

Los cambios morfológicos que tiene que experimentar *Ae. aegypti* a través de toda su vida son complejos e interesantes. El hecho de vivir en el agua durante cierto tiempo y desplazarse al ambiente aéreo posteriormente, requiere desde aparato bucal diferente (masticador en larva y picador-chupador en adulto), hasta formas de locomoción totalmente opuestas, movimientos natatorios de su cuerpo en el agua contra la presencia de un par de alas para el vuelo horizontal y vertical a diferente velocidad.

Las cuatro fases durante su metamorfosis son: huevo, larva (4 mudas con sus respectivos estadios), pupa y adulto diferenciado en sexo. Por estos motivos, es considerado un insecto holometábolo (Chapman 1982).

Ae. aegypti es una especie tropical y subtropical, se encuentra usualmente en la franja geográfica del paralelo 35° al norte y 35° al sur, pero ha sido encontrado hasta los 45° de latitud norte. Su distribución es limitada por la temperatura, contenida en un invierno isotérmico de 10°C y su distribución vertical es de una altitud menos de 1000 m.s.n.m.; sin embargo, ha sido reportada por encima de los 2000 m.s.n.m. en países como la India y Colombia (CDC 1980, Tinker 1993).

Este mosquito es oriundo de África, pero se ha encontrado en los territorios del Caribe por más de 350 años y probablemente fue introducido durante los siglos XV al XVII desde la parte Oeste de África a bordo de barcos que cruzaban el Atlántico como parte del mercado de esclavos, diseminándose a través de la región por el intercambio entre las islas (Tabashnik 1991). Las poblaciones de mosquitos del Caribe representan probablemente, la introducción inicial de esta especie dentro del Nuevo Mundo (Yan *et. al.*, 1997).

Esta especie, en su continente de origen, se cría independiente del hombre en áreas forestales (selváticas), así como utilizando hábitat doméstico (Harwood *et. al.*, 1987). Al contrario, en el Caribe, es casi una especie doméstica, se encuentra en áreas urbanas,

usualmente a 100 m de la habitación humana.

En la última década se han venido realizando investigaciones sobre la biología de estos mosquitos, sus sitios de cría se han convertido en uno de los aspectos más estudiados. Diversos y diferentes han sido los criaderos encontrados, los cuales varían de acuerdo a las condiciones socioeconómicas y culturales en los lugares de estudio.

En Río de Janeiro, en barrios de pésimas condiciones, donde no se tiene un buen suministro de agua y se utilizan barriles para su almacenamiento, son lugares excelentes para la cría de los mosquitos. En cambio, en barrios donde las condiciones socioeconómicas son mucho mejores y no existen estos problemas, se tiene como costumbre mantener plantas ornamentales dentro de las casas, proporcionando sitios muy factibles para que las hembras depositen sus huevos (Lima *et. al.*,2003).

En observaciones llevadas a cabo en New Orleans, las llantas, tanques de cemento de 55 galones, máquinas para el lavado de ropa, cisternas, bebederos de animales, entre otros, son buenos lugares de cría para estos insectos (Focks *et. al.*1981). En una investigación llevada a cabo en el área metropolitana de la ciudad de Panamá, se encontró que el 73% de las formas inmaduras se desarrollaban en objetos inservibles: envases plásticos, latas, chatarra, llantas y botellas (Dutary 1989).

Los estudios realizados en Cuba, por García Ávila, reportan que la especie *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linneaus, 1762), está distribuida comúnmente en toda la isla. Cría en depósitos naturales y artificiales temporarios, pero siempre próximo a las viviendas o dentro de ellas. Otros lugares encontrados para su hábitat fueron los barriles y tanques que contenían agua limpia, de lluvia o corriente, floreros, recipientes de cristal o metálicos, gomas de automóviles y otros vehículos expuestos a la intemperie y ocasionalmente, en huecos de árboles cerca de las viviendas. Puede encontrarse en asociación con *Ae. mediovittatus* y *Culex quinquefasciatus* (Pérez 2004).

Previos estudios desarrollados por Marquetti *et. al.*, en el año 2000, demostraron que las fuentes de agua como depósito artificiales y tanques bajos fueron los recursos más explotados para su cría en el municipio Boyeros. Estos datos son similares a los encontrados en Playa en ese mismo año por Aguilera *et. al.*,Según Knudsen, los depósitos artificiales son los más importantes por su disponibilidad, gran cantidad y proximidad al domicilio humano (Knudsen

1991).

El vector del dengue es un mosquito con alimentación diurna, lo que contrasta con los anofelinos transmisores de malaria que prefieren picar en la noche. En estudios realizados en la Isla de Trinidad en el Caribe, observaron el biorritmo de la picadura del *Ae. aegypti*. Definieron un patrón bimodal, es decir, dos picos de máxima actividad, los cuales oscilaban entre las 6:00 – 7:00 am y después en la tarde entre las 17:00 y las 18:00 pm, esto fue posible por el empleo de captura humana (Chadee 1988).

La picadura del mosquito se mantenía en niveles muy bajos durante todo el día. Es importante resaltar que el 95 % de las hembras se capturaron con la luz del día. Después de este análisis, el comportamiento de los dos picos estudiados fue casi igual dentro y fuera de las casas examinadas. Existe un mínimo de variación de este ciclo bimodal en los países donde se distribuye esta especie (Chadee 1988).

Esta información del comportamiento del vector es importante en la transmisión de la enfermedad, por la sincronización con las horas de actividad humana dentro de los domicilios y centros de trabajo. Es válido añadir su importancia para definir las mejores horas en que la lucha anti vectorial con adulticidas pueden ser efectivos (Fernández 1999).

Para producir sus huevecillos y dejar su descendencia, la hembra debe alimentarse de sangre y la toma de su fuente más inmediata: el hombre. Estudios realizados demuestran que más del 90 % de la fuente corresponde a sangre humana, el resto proviene de animales domésticos como perros y gatos (Scott 1993). El tiempo para la digestión de la sangre, su consumo y su consecuente producción de huevo varía de 3 a 5 días dependiendo de la temperatura ambiental.

La migración es a menudo considerada más vinculada a la biología y a la supervivencia de las especies, considerándose un vuelo más controlado y persistente mientras que por otra parte la dispersión es comúnmente descrita como un vuelo fortuito con el viento (Service 1993).

La distancia en la dispersión aceptada para *Ae. aegypti* en la mayoría de las latitudes donde se distribuye es menos de 150 m (Gubler 1997). No obstante, hallazgos encontrados en Puerto Rico demostraron una dispersión máxima de 840 m (Reiter 1995).

Sin embargo, muchas investigaciones reportan la distancia de 100 a 150 m como promedio. Experimentos de captura y recaptura de 401 hembras sin alimentar y marcadas en Monterrey (México), mostró que la distancia de dispersión fue de 8 m como mínimo y 120 m como máximo, el promedio de la mayoría de las recapturas fue de 30 m.

Otros estudios basados fundamentalmente en los procesos de liberación y recaptura fueron desarrollados en Brasil, se logró asociar que el sentido de la dispersión o al menos parte de ella se debe a las actividades de ovoposición y que ese comportamiento varía de acuerdo con la disponibilidad de recipientes potencialmente capaces de almacenar agua (Forattini 2002).

A pesar de esta situación las hembras tienden a permanecer en el local, quedándose pasadas el primer día luego de alimentarse con sangre y después de 24 horas se dispersan, pudiendo alcanzar distancias de poco más de 800 m en cada ciclo gonadotrófico (Forattini 2002). Conocer la distancia que puede desplazarse una hembra infectiva es sumamente importante para delimitar el alcance del terreno donde se aplicarán medidas de control (Pérez 2004).

3.10 Genética de poblaciones.

3.10.1 Equilibrio de Hardy-Weinberg.

La Ley de equilibrio de Hardy-Weinberg (1908) establece que en determinadas condiciones, una población es capaz de mantener una frecuencia alélica relativa, es decir, una relación estable de genes dominantes a recesivos. Esta relación es el equilibrio de Hardy-Weinberg.

Considerando la posibilidad de una población cuya reserva genética contiene los alelos A y a (son las formas alternativas de un gen en la misma posición en un cromosoma), en un individuo diploide hay dos posibles alelos en cada lugar. Si son diferentes, entonces la persona se dice que es heterocigótica y si son el mismo se dice que es homocigótica. Por otro lado, una población es capaz de tener muchos alelos diferentes en el mismo locus.

La frecuencia génica de un alelo en una población es el número de un tipo específico del alelo dividido por el número total de genes para el rasgo. Las frecuencias de genes pueden ser altas o bajas y no dependerá de la forma en que el gen se expresa. Con el fin de que la evolución se produzca, la población debe tener suficiente diversidad genética, un reservorio de la variabilidad, de manera que al menos algunos miembros de la población puedan responder a las cambiantes condiciones ambientales.

3.10.2 Desviaciones de Hardy -Weinberg

Las desviaciones de valores previstos pueden ser debido a una variedad de causas. Si se observa un exceso de heterocigotos éste puede indicar la presencia de la selección más dominante o algún acontecimiento fuera de la reproducción.

Alternativamente, si se detecta un exceso de homocigotos puede ser debido a cuatro factores. i) el lugar geométrico está bajo selección. ii) los "alelos nulos" presentes puede que están conduciendo a una observación falsa de exceso de homocigotos. iii) la endogamia puede ser común en la población. iiiii) la presencia de la subestructura de la población puede conducir al efecto de Wahlunds. La probabilidad de cada uno de estas explicaciones se debe determinar de datos adicionales, tales como información demográfica, es decir distribución de la población.

El análisis de pedigríes conocidos ayudará en esta búsqueda. La comparación de la herencia de alelos permitirá la identificación de los alelos nulos (Callen *et. al.*, 1993; Paetkau & Strobeck 1995; Pemberton *et. al.*, 1995). Los alelos nulos son causados generalmente por una mutación en el sitio obligatorio súper específico que conduce a un alelo que no amplifique (Callen *et. al.*, 1993; Paetkau y Strobeck 1995).

El análisis de una gran cantidad de lugares geométricos aumentará la energía de detectar la subestructura de la población porque cada lugar geométrico contendrá una historia independiente de la población dependiendo de las cantidades de deriva al azar, la mutación, y la migración que han ocurrido.

Si esta información no es independiente (es decir los lugares geométricos genético se ligan) entonces los resultados puede ser en polarización negativa hacia los acontecimientos de un solo grupo del acoplamiento puesto que esta información será excedente representado en el

modem combinado. Si una cantidad substancial de información pedigri no está disponible, el análisis del acoplamiento puede no ser útil.

En esta situación un análisis del equilibrio de la fase del gameto (Chakraborty 1984) se puede realizar para probar para la asociación al azar de alelos en diversos lugares geométricos (Edwards *et. al.*,1992).

3.10.3 Variabilidad Genética

La variabilidad genética requiere de un detallado conocimiento de los factores que la causan, ya que debido a lo frágil que son muchas especies y ecosistemas, cualquier tipo de alteración les afecta fuertemente, dejándolas "indefensas" ante cualquier cambio del medio ambiente en el cual se desarrollan. Actualmente la presión sobre los recursos naturales ha llevado a importantes pérdidas de diversidad, según Zuñiga en 2006.

Latta (1998) indica que los análisis comparativos de diversidad genética en diferentes integrantes del mismo rasgo sólo raras veces eran dirigidos, pero cuando comparamos el nivel y la distribución de diversidad genética en marcadores neutros genéticos refiere, el QTL (Quantitative Trait Loci) de la contribución a un rasgo adaptable, y el rasgo adaptable en sí. Esto puede ser visto como una tentativa de acortar el hueco entre la genética demográfica y cuantitativa. (Le Corre *et. al.*,2003, y Bost *et. al.*,1999)

3.10.4 Flujo genético

El flujo génico se a todos los mecanismos que generan movimiento de genes de una población a otra. Las poblaciones de una especie pueden intercambiar genes en mayor o menor grado, ya sea genes nucleares o genomas uniparentales como la mitocondria o el cloroplasto, debido al movimiento de gametos, semillas, individuos juveniles o adultos (en animales y en el caso de algunas plantas), así como por eventos de extinción y recolonización de poblaciones enteras (Slatkin, 1985a), aunque cabe mencionar que los migrantes que no se reproducen en la población a la que migraron no contribuyen al flujo génico.

El estudio del flujo génico ha sido un tema vital en biología evolutiva, ya que es un componente importante en la estructura de las poblaciones. Anteriormente se pensaba que el flujo génico en general era muy restringido y de poca importancia evolutiva (Levin, 1981). Sin embargo, se ha observado en distintas especies que los niveles estimados de flujo génico generalmente son altos (Riesberg & Burke, 2001) y que pueden actuar como una fuerza que mantiene integrada a la especie, además de influir en procesos ecológicos.

Por ejemplo pueden determinar la persistencia y adaptación de poblaciones locales, las tasas de extinción de las especies, la evolución de los rangos de distribución de las especies y otras propiedades ecológicas (Whitlock & McCauley, 1999).

Asimismo, si el flujo génico entre poblaciones de una especie es alto, todas ellas evolucionan de manera conjunta (a menos que sea contrarrestado por selección o deriva génica), pero si es muy bajo, empiezan a divergir, lo que puede contribuir al aislamiento reproductivo y al establecimiento de linajes evolutivamente independientes (Slatkin, 1994).

En biología de la conservación se ha tratado de estimar el flujo génico actual tratando de entender el movimiento de genes a una escala regional o de paisaje. Por ejemplo, existen estudios que consideran que las poblaciones fragmentadas pueden tener una dinámica de metapoblaciones a través de la extinción y recolonización de distintos fragmentos, aunque actualmente no se tiene una metodología clara en la que las estimaciones de flujo génico permitan relacionar los modelos de metapoblaciones con la ecología del paisaje.

Según Chesser (1991) en su publicación "Influence of Gene Flow and Breeding Tactics on Gene Diversity Within Populations" asegura que hay un tiempo exigido para lograr el valor asintótico, sin embargo, se prolonga cuando el flujo genético entre los linajes era relativamente bajo (< 20%).

La importancia de flujo genético en la evolución tiene dos perspectivas fuertes que son: La primera representada por Mayr (1963) y Stanley (1979), dice que el flujo genético es común y que una cantidad pequeña del flujo genético entre las partes diferentes de una especie rango eficazmente se unifica la especie y los cambios genéticos afectan significativamente en cada parte del rango y la segunda perspectiva, representada por Ehrlich & Raven (1969), sostienen que el flujo genético es raro y esa selección natural actúa más o menos independientemente en cada uno las partes de una especie rango.

Mientras las dos perspectivas son probablemente correctas para algunas especies, no hay ninguna manera de determinar la importancia de flujo genético en las poblaciones naturales, porque no hay forma directa de estimar el nivel de flujo genético.

Los niveles de flujo genético pueden ser severamente bajos y estimados a través del movimiento de individuos o severamente sobrestimados porque los individuos se pueden mover pero no la casta. También, marcándose pueden afectar la dispersión. Estimaciones directas que usan los mutantes visibles, como obtenido por Bateman (1947a, b), es sumamente difícil de obtener en poblaciones naturales.

3.10.5 Microsatélites

Según Cheng & Crittenden (1994), los marcadores microsatélites son segmentos cortos de ADN de 1 a 6 pares de bases (pb), los cuales se repiten en tándem y de forma aleatoria en el genoma de los seres vivos. Una de las ventajas de estos marcadores *versus* otros (minisatélites, RFLP, RAPD, etc.) radica en que están considerados, por la mayoría de autores como la más poderosa herramienta para los estudios de genética de poblaciones ya que: son muy polimórficos, presentan herencia mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigotos de los heterocigotos), son fáciles de medir y analizar, son fiables, repetitivos y automatizables

Takezaki & Nei (1996) mencionan que una de las principales utilidades de este tipo de marcador, es la posibilidad de estimar los niveles de variabilidad genética dentro de las poblaciones y analizar las relaciones genéticas existentes entre las mismas. Este tipo de estudio, son de gran importancia para realizar estimaciones de la diversidad genética y de la consanguinidad existente en poblaciones de animales domésticos en peligro de extinción.

Durante los últimos años se han realizado muchos estudios que han utilizado los microsatélites para análisis filogenéticos, concluyendo que, con un buen número de loci investigados y con apropiadas tasas de mutación, los microsatélites pueden dar una muy buena aproximación de la filogenia.

Bowcock *et. al.*,(1994) y Ponsuksili *et. al.*,(1999) coinciden al decir que en los estudios de genética poblacional, estos marcadores permiten la identificación de cada alelo por locus, y

obtener datos poblacionales, calcular las frecuencias alélicas, y a partir de estas estimar las distancias genéticas entre las poblaciones o individuos.

Williams *et. al.*,(1997) sostiene que los microsatélites se han convertido en la principal fuente de marcadores genéticos, ya que son abundantes, están distribuidos regularmente en el genoma, se heredan de forma codominante y poseen un elevado grado de variabilidad en las poblaciones. Debido a ello, están adquiriendo una importancia creciente en los últimos años según estudios sobre análisis de variabilidad genética y relaciones entre especies y razas, así como para controles de paternidad o identificación de muestras.

La diversidad o variabilidad genética se puede definir como “la habilidad genética para variar”, y por ende, la capacidad de responder tanto a variaciones de índole ambiental como a cambios en los objetivos de selección. Es así, que la variabilidad genética constituye la base del progreso genético. Y pueden ser medidos, a través de una gran diversidad de estadísticos que cuantifican la variabilidad genética y resumen la información a términos más manejables. Cada uno de ellos aprecia diferentes aspectos de la variabilidad y su utilidad práctica estará en función del propósito del estudio. (Rochambeau *et. al.*,2000)

Moazami-Goudarzi *et. al.*,(1997) Indican que si lo que se pretende es analizar las diferencias existentes dentro de las poblaciones, la variabilidad detectada por medio de microsatélites se convierte en un instrumento eficaz de estudio e información. Esto puede hacerse de diversas formas, pero se utiliza generalmente la tasa o índice de contenido polimórfico (PIC), número medio de alelos por locus, la heterocigosidad, la probabilidad de exclusión (PE), etc.

Weir & Cockerham (1984) Señala que si el objetivo es comparar la diferenciación existente entre poblaciones, se estima entonces la divergencia evolutiva entre ellas, sobre la base de sus frecuencias génicas. Para ello, resulta más indicado el uso de los índices de distancia genética que permiten establecer comparaciones y determinar sus relaciones filogenéticas y los análisis de la estructura de la población, mediante el uso de los F-estadísticos, este análisis permite determinar el déficit o exceso de heterocigotos en la población (es).

3.11 Estimación de la estructura poblacional

3.11.1 Distancia genética

El cálculo de una distancia genética entre dos poblaciones de una misma especie da una estimación del tiempo que ha transcurrido desde que las poblaciones han existido como una única unidad coherente. Los pequeños cálculos de distancia puede indicar subestructura población (es decir, las subpoblaciones en la que hay apareamiento al azar, sino entre los que existe una reducida cantidad de flujo de genes).

Sin embargo, los pequeños cálculos de la distancia también pueden estar presentes porque las poblaciones están completamente aisladas sino que han sido separados sólo por un corto período de tiempo. Cuando son dos poblaciones genéticamente aisladas, los dos procesos de mutación y deriva genética conducen a la diferenciación en las frecuencias de los alelos en loci selectivamente neutral.

A medida que la cantidad de tiempo que dos poblaciones están separadas aumenta, la diferencia de frecuencias de los alelos también debe aumentar hasta que cada población es totalmente independiente fijado para alelos. Varios se han desarrollado métodos que calculan distancia genética de estas diferencias de frecuencia alélica. Las estimaciones de distancia genética se determinan a partir de las diferencias de frecuencias de los alelos de microsatélites pueden resumirse en las dos categorías, IAM y SMM / estimadores basados en TPM.

3.11.2. F-estadístico

Algunas de las medidas más útiles de la subdivisión de la población son la F-estadística desarrollada por Wright (1965). El F-estadístico se puede pensar como medida de la correlación de alelos dentro de individuos y se relaciona con los coeficientes de la endogamia. Un coeficiente de la endogamia es realmente una medida de la asociación no aleatoria de alelos dentro de un individuo. Como tal, la estadística de la F describe la cantidad endogamia-como efectos dentro de subpoblaciones F_{IS} , entre subpoblaciones F_{ST} , y dentro de la población

entera F_{IT} . Éstos se pueden también clasificar como IAM y peritos basados SMM/TPM de la F-estadística.

IAM basado en F-estadístico

La consanguinidad dentro de una subpoblación es causada por el no apareamiento aleatorio de los miembros de esa subpoblación, en que el apareamiento se produce con más frecuencia que por pura casualidad, entre individuos estrechamente relacionados. Como individuos estrechamente relacionados contendrá una gran proporción de los mismos alelos debido a la ascendencia común, sus hijos tienen un mayor nivel de homocigocidad, y por el contrario, un nivel más bajo de heterocigocidad entonces se esperaba. Subpoblaciones dentro de un F-estadística pueden ser estimadas a partir de una relación de la que se observa a heterocigocidad esperada donde,

$$F_{IS} = \frac{\bar{H}_S - H_I}{\bar{H}_S}$$

donde \bar{H}_S es la heterocigocidad prevista media estimada de cada subpoblación cerca,

$$H_S = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2,$$

y H_I es la heterocigocidad observada media,

$$H_I = \sum_{i=1}^k \frac{H_i}{k}$$

para las subpoblaciones de k.

La subestructura de la población también conducirá la endogamia como a sus efectos, es decir una reducción en heterocigocidad observada cuando está comparada con la esperada. Este efecto se conoce como efecto de Wahlunds. Esta relación demuestra que como se desvían las frecuencias del alelo en dos subpoblaciones, el heterocigocidad prevista media en

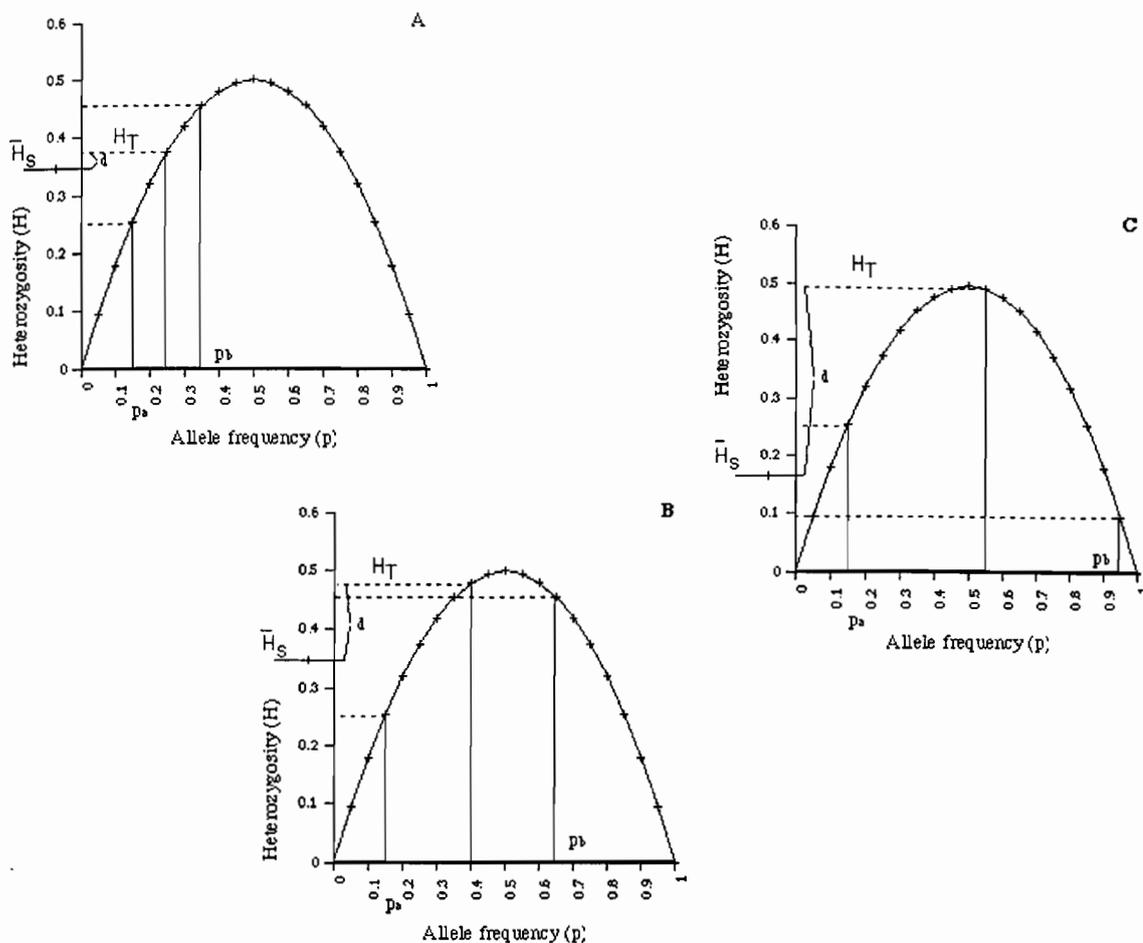
esas poblaciones será siempre menos que lo esperada de las frecuencias reunidas del alelo H_T . Entre F-estadística de las subpoblaciones puede ser estimado de este cociente.

$$F_{ST} = \frac{H_T - \bar{H}_S}{H_T},$$

donde

$$H_T = 1 - \sum_{i=1}^k \bar{p}_i^2,$$

y \bar{p}_i es la frecuencia del alelo del *ith* haciendo un promedio sobre todas las subpoblaciones. Debe ser observado que como se desvían las frecuencias del alelo, la diferencia adentro \bar{H}_S y H_T aumentará y F_{ST} por lo tanto también servirá como medida de la distancia genética entre subpoblaciones.



La medida de la correlación de los alelos para la población entera es así una combinación del dentro y entre efectos de la subpoblación, y se puede estimar de,

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_I}{H_T}$$

Nei (1987) se convirtió más lejos F_{ST} de modo que los datos de muchos lugares geométricos pudieran ser combinados. Esta estimación G_{ST} se calcula de

$$G_{ST} = \frac{D_{ST}}{H_T}$$

donde D_{ST} y H_T se hacen un promedio a través de todos los lugares geométricos y después se utiliza G_{ST} .

$$D_{ST} = \alpha_s^2 \sum_i \sum_{j>j'} (p_{ij} - p_{ij'})^2$$

donde p_{ij} está la frecuencia del alelo del i th en la población del j th.

Weir & Cockerham (1984) han desarrollado un método basado en la variación para la valoración de la estadística de la F_{ST} puede ser pensado como la correlación de pares de alelos entre los individuos dentro de una subpoblación. Si hay estructura de la población entonces los alelos encontrados dentro de una subpoblación se deben correlacionar (encontrado más a menudo junto que esperado) con respecto a todos los alelos encontrados en la población entera. Weir & Cockerham (1984) describen una medida θ_{ST} , la cuál estima la correlación de pares de alelos entre los individuos dentro de una subpoblación con un análisis de repartir de la variación de la frecuencia del alelo.

La variación total de la frecuencia del alelos dentro de una población σ_T^2 es igual a la suma de sus componentes; entre la variación de la subpoblación en frecuencia del alelo σ_B^2 , entre los individuos dentro de la variación de la subpoblación en frecuencia del alelo σ_W^2 , y en medio los gametos dentro de la variación de los individuos en frecuencia del alelo σ_I^2 , es decir.

$$\sigma_T^2 = \sigma_B^2 + \sigma_W^2 + \sigma_I^2.$$

Dado esto θ_{ST} puede ser estimado de

$$\theta_{ST} = \frac{\sum_i \sum_u \sigma_B^2}{\sum_i \sum_u \sigma_T^2},$$

donde las variaciones en frecuencia del alelo se suman sobre todos los alelos i y todos los lugares geométricos U . Las fórmulas exactas para las valoraciones del componente de la variación se pueden encontrar en Weir & Cockerham (1984). En el caso especial cuando los tamaños de muestra n y el número de las subpoblaciones muestreadas d_s son muy grandes, la valoración θ_{ST} del se puede reducir a

$$\theta_{ST} = \frac{\sum_j n_j (p_j - \bar{p})^2}{(d_s - 1) \bar{n} \bar{p} (1 - \bar{p})}$$

donde n_j y p_j está el tamaño observado de la frecuencia y de muestra del alelo de la población del j th, y \bar{p} y \bar{n} es el tamaño medio de la frecuencia y de muestra del alelo para la población entera. De esta ecuación puede ser visto que como divergen las frecuencias del alelo en la subpoblación, el valor del numerador aumentará, y el valor θ_{ST} del acercamiento 1 de la voluntad.

SMM/TMP basó F-estadística

Como con los métodos de la distancia, todos los métodos antedichos de estimar F_{ST} se basan en las asunciones del IAM, Slatkin (1995) ha demostrado que las medidas de la suma media de los cuadrados de la diferencia de tamaño del allele están relacionadas con F_{ST} . De teoría coalescent puede ser demostrado que F_{ST} está relacionado con los tiempos medios de la fusión, tales que,

$$F_{ST} = \frac{\bar{t} - t_0}{\bar{t}}$$

donde \bar{t} es el tiempo medio a la fusión de cualquier dos alelos aleatoriamente elegidos de la población entera, y t_0 es el tiempo medio a la fusión de cualesquiera dos alelos aleatoriamente elegidos dibujados de la misma subpoblación (Slatkin 1991). En dos poblaciones con los alelos divergentes, el tiempo medio a un antepasado común para cualquier

dos alelos en una subpoblación va a ser menos que el tiempo medio a la fusión de cualesquiera 2 alelos dibujados de la población entera. De acuerdo con esta relación, Slatkin (1995) desarrolló una valoración F_{ST} de eso incorporaría la historia del mutacional contenida dentro de los alelos debajo del SMM R_{ST} .

$$R_{ST} = \frac{\bar{S} - S_W}{\bar{S}},$$

Donde S_W y \bar{S} están la suma media de los cuadrados de la diferencia de tamaño del alelo dentro de una subpoblación y la población entera como describen arriba. Slatkin observó que $E(S_W) = 2\mu t_0 \sigma_m^2$ y que $E(\bar{S}) = 2\mu \bar{t} \sigma_m^2$. Así,

$$\frac{E(\bar{S}) - E(S_W)}{E(\bar{S})} = \frac{\bar{t} - t_0}{\bar{t}} = F_{ST}.$$

Interpretación FST

Interpretación de valores FST puede ser una peligrosa tarea. Por ejemplo, valores idénticos de FST puede estimarse de diferentes patrones de frecuencias de los alelos (Wright 1978). La interpretación teórica de los dos extremos de FST (0 y 1) es sencillo, sin embargo un valor de cero significa que la muestra es una unidad de tipo panmíctico. En el otro extremo, un valor de uno de los medios que no hay diversidad dentro de las subpoblaciones. Entre los valores estos dos extremos serán interpretados como que representan diferentes niveles de estructuración. Sin embargo, puede ser difícil y engañoso de dar un sentido biológico para estos valores. Para la interpretación de la Fst, se ha sugerido que un valor de altitud en el rango 0-0.05 indica poca diferenciación genética, un valor de entre 0,05 y 0,15 una diferenciación moderada, un valor entre 0,15 y 0,25, una diferenciación considerable; y valores por encima de 0,25, una gran diferenciación genética (Wright, 1978; Hartl & Clark 1997). De hecho, una FST de 0,05 por lo general debe considerarse como razonablemente bajos y los investigadores pueden interpretar que la estructuración entre subpoblaciones es débil.

Si bien esa interpretación puede llegar a ser correcta, también puede no ser representativa en todas las demás poblaciones. Uno tiene que recordar que la expectativa de F_{st} , en virtud de la diferenciación completa no siempre será uno. De hecho, en la gran mayoría de los casos, no será uno, por el efecto del polimorfismo (debido a mutaciones) disminuye drásticamente las expectativas de F_{st} (Wright 1978; Charlesworth 1998; Nagylaki 1998; Hedrick 1999).

Por lo tanto, bajo una apariencia de F_{st} 0.05, puede indicar una importante diferenciación genética. Este punto ya fue subrayado por Wright (1978), que escribió que la diferenciación es nada despreciable si F_{st} es tan pequeño como 0,05 o incluso menos. Un ejemplo empírico está dado por el uso de un Microsatélite polimórfico del cromosoma-Y (Balloux et al. 2000a). Quince alelos se anotaron en este lugar, lo que demuestra estrictamente un alelo entre dos razas muy distintas en distribuciones y a nivel cromosómico de la musaraña común (*Sorex araneus*).

Si bien estas distribuciones disjuntas se tradujo en una R_{st} alta de 0,98 que refleja correctamente la ausencia total del mismo mediada por el flujo de genes entre estas razas, el valor de F_{st} era sólo de 0,19. Este ejemplo ilustra bien la sensibilidad del F_{st} en presencia de un polimorfismo elevado cuando la migración es baja.

Si bien la interpretación de los valores de F_{st} y R_{st} de por sí puede dar lugar a conclusiones erróneas, los genetistas de población están a menudo interesados en la estructuración de la evaluación de si es significativa o no. Es decir, si la estimación de F_{st} o R_{st} presenta un valor significativamente difiere de cero.

El uso de pruebas no paramétricas nos proporciona un medio para evaluar la importancia de las estimaciones de F_{st} / R_{st} . La prueba de estimación exacta se basa en un procedimiento de permutación, en la que genotipos se barajan entre las subpoblaciones una gran número de veces, digamos 10 000 veces. De cada uno de estos datos se establece el F_{st} y / o R_{st} y se estima la proporción de valores mayores o iguales lo que permite calcular el conjunto de datos reales del valor-P de la prueba. Estas pruebas son muy potentes, incluso para un tamaño razonable conjuntos de datos.

Si bien los procedimientos de permutación permitir ensayos en cuanto a las estimaciones F_{st} (o R_{st}) parten de cero, las pruebas exacta de diferenciación genética que son independientes de

la forma de estructuración de la población se infiere. Gracias al importante polimorfismo de los microsátélites, estas pruebas pueden tener un tremendo poder.

3.11. Genética de *Aedes aegypti*

En *Aedes aegypti* se hicieron estudios en cuanto su genética con diferentes métodos, a continuación haremos referencia de dichas investigaciones y de sus autores.

Powell (1980) reveló que las diferencias genéticas entre las poblaciones en seis regiones geográficas y entre las dos subespecies permiten determinar el origen regional de una población. Estos estudios de la genética de poblaciones pueden tener bastante aplicación en el estudio general de las enfermedades transmitidas por vectores.

McCauley (1991) ha demostrado que un patrón de extinción local y recolonización puede tener consecuencias importantes para la estructura genética de las poblaciones subdivididas; consecuencias que sean pertinentes a las cuestiones en la evolución y la biología de la conservación. La naturaleza de esas consecuencias depende en gran medida de la modalidad de formación de colonias.

Extinción y recolonización puede aumentar o disminuir la diferenciación genética de las poblaciones locales y puede llevar a una pérdida de la diversidad genética almacenada en una serie de poblaciones..

De Sousa (2000) presentó estimaciones de la variabilidad genética en *Ae. aegypti* en poblaciones del centro de Argentina y la determinación de las distancias genéticas entre ellos. Se analizaron allozymic frecuencias en 11 loci en muestras de 3 localidades. El proporción de loci polimórficos osciló entre 27,3 y 63,6. heterozigosidad media esperada varió entre 0,090 a 0,161 y rangos de similitud entre las muestras oscilaron entre 0,909 y 0,958.

La falta de relación entre las distancias genéticas y geográficas está de acuerdo con una reciente colonización de la zona estudiada. La media del coeficiente del valor Wright F_{ST} (0,065) indica que los bajos niveles de diferenciación genética entre las poblaciones de diferentes localidades. Habida cuenta de la reciente reinfestación con este mosquitos en la Argentina, los altos niveles de polimorfismo encontrado podría indicar las introducciones múltiples de muestras representativas de subpoblaciones genéticamente distintas.

Gorrochotegui-Escalante (2002) realizó un análisis genético de la población de *Ae. aegyptise* entre 38 colecciones de todo regiones costeras de Mexico. Se hicieron varios grupos dentro de los 5 locales de las ciudades para examinar los patrones de flujo de genes. El análisis de regresión de las distancias geográficas y los valores de FST indicó que las colecciones fueron genéticamente aisladas por la distancia en el Pacífico y el de Yucatán, pero no entre las colecciones en el noreste del país. Libre flujo de genes se produjo entre todas las colecciones en 130 km de uno al otro en el noreste del país y dentro de los 180 km en el de Yucatán. FST valores nunca fueron grandes entre el Pacífico colecciones, lo que indica el flujo de genes extenso a lo largo de la costa del Pacífico.

Huber (2002) en Vietnam usó de marcadores de microsatélites para diferenciar las poblaciones de *Ae. aegyptien* Ciudad Ho Chi Minh, una típica, el hacinamiento en la ciudad asiática. Seis loci microsatélites, con 5-14 alelos por locus, se anotó en 20 muestras de mosquitos recogidos en 1998 en Ciudad Ho Chi Minh. Se encontraron diferencias sustanciales entre *Ae. aegypti* poblaciones de los alrededores, mientras que las poblaciones del centro de la ciudad mostró menos diferenciación.

Estos resultados son consistentes con la hipótesis de que la población de *Ae. aegypti* en el centro de Ciudad Ho Chi Minh son de tipo panmíctico porque hay abundantes sitios de cría de larvas y la abundancia de los seres humanos para que los adultos se alimentan de. En contraste, las poblaciones en la periferia se diferencian en gran medida a través de los procesos de deriva genética, porque son lugares de cría de las larvas no es tan abundante. Estos resultados implican las actividades humanas asociadas con la urbanización, como factores que determinan la estructura genética de *Ae. aegypti* poblaciones.

Failloux AB (2002) evaluó la variación en 79 muestras del mosquito *Aedes aegypti*, y la susceptibilidad a una cepa del virus de dengue 2, la diferenciación de los índices, y las distancias geográficas que separan las poblaciones reveló que las diferencias genéticas entre las poblaciones de especies dependen de la historia de la migración y la colonización.

Tres grupos principales fueron identificados: (1) la forma selvática, *Ae. de. formosus*, desde el África occidental y algunas islas en el Océano Índico; (2) la forma doméstica, *Ae. aegypti*, desde el sudeste de Asia y América del Sur, y (3) *Ae. aegypti* poblaciones de las islas del Pacífico Sur. Se identificaron dos grupos sobre la base de la susceptibilidad a los virus del dengue: (1) las

poblaciones con altas tasas de infección, la mayoría de la *Ae. aegypti* forma, y (2) los mosquitos con menores tasas de infección, específicamente *Ae. aegypti. formosus*.

Morlais (2002) analizó el citocromo c oxidasa mitocondrial de *Aedes aegypti*. El *Ae. aegypti* COI péptido presenta una elevada homología, hasta el 93% de identidad, con varias secuencias de otros insectos y un análisis filogenético indica que la secuencia de *A. aegypti* está estrechamente relacionado con otros dos mosquito especies, *Anopheles gambiae* y *Ae. quadrimaculatus*.

La comparación de la secuencia de nucleótidos de cuatro cepas de *Ae. aegypti* de laboratorio revelaron polimorfismos de nucleótido único, con 25 nucleótidos de los sitios que muestran SNPs entre cepas. Todos los SNP producido transiciones tales como sinónimo de que la secuencia del péptido se conserva entre las cepas de *A. aegypti*. RT-PCR análisis mostró que el COI se expresa en niveles similares en todas las etapas de desarrollo y los tejidos.

Fraga (2003) utilizó dieciocho loci enzimáticos que fueron analizados en las poblaciones de *Ae. Aegypti* de cuatro barrios de la ciudad de Manaus. Los análisis mostraron que el centro de la población era la más polimórficos ($p = 55,6\%$) con mayor media observada y la esperada heterocigositos ($H_o = 0,152 \pm 0,052$; $\bar{E}l = 0,174 \pm 0,052$, respectivamente).

A lo menos se ha detectado variabilidad en las poblaciones de Coroado y Cidade Nova, ambos con el 44,4% de polimorfismo. Esta última población presentó el menos observado heterocigosidad ($H_o = 0,109 \pm 0,037$). Los F estadísticos muestran que el valor medio de Fis fue superior a la de Fst ($Fis = 0,164 > Fst = 0,048$), y del análisis de la varianza molecular (AMOVA) se encontró que 95,12% de la variabilidad se encuentra dentro de las poblaciones que indica determonados intracomunitarios, a diferenciación de la estructura resultante de barreras microgeograficas algunos con acoplamiento al azar. Aunque las cuatro poblaciones fueron similares genéticamente ($D = 0,003$ a $0,016$), el 4,88% de diferenciación fue significativa.

Paupy (2003) estudió la variación espacial y temporal de *Ae. aegyptien* muestras recogidas de Phnom Penh y sus suburbios utilizando alozimas y la susceptibilidad a un virus del dengue-2. Sobre la base de siete allozyme sistemas, que hemos detectado bajos niveles de intercambio genético (es decir, altamente significativa, los valores de FST) entre la población recogida en el centro de la ciudad, y diferentes modelos de la estructura genética de las muestras recogidas en los suburbios, en función del tipo de medio ambiente y la la fecha de recogida.

En el sur de los suburbios y la Península de Chroy Chang Var, la diferenciación se convirtió en altamente significativa al final de la temporada seca, mientras que esta situación se observó para las colecciones de los suburbios del norte.

Paupy (2005) llevó a cabo el análisis genético de *Ae. aegyptien* 47 colecciones de Camboya, usando siete loci polimórficos isoenzima y posteriormente analizado por electroforesis en gel de almidón. Se encontró F_{ST} bajo ($F_{ST} = 0,024$) pero significativo ($P < 10^{-6}$). Cualquiera que sea la agrupación de las muestras analizadas, la diferenciación sigue siendo importante, pero baja.

El papel de las actividades humanas (es decir, los tratamientos insecticidas o prácticas de almacenamiento de agua) y los factores ambientales (es decir, la lluvia) en la configuración de la diferenciación de mosquitos se discuten.

Se investigaron las relaciones entre *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* mosquitos basado en tres genes de ADN mitocondrial (citocromo b, citocromo oxidasa I y NADH deshidrogenasa subunidad 5). Poco se observó variación genética de *Ae. albopictus*, probablemente debido a la reciente propagación de la especie a través de las actividades humanas. De *Ae. aegypti*, la mayoría de las poblaciones de América del Sur resultaron ser genéticamente similares a las poblaciones del sudeste de Asia (Tailandia y Vietnam), a excepción de una muestra de Boa Vista (norte de la Amazonia), que estaba más estrechamente relacionada con las muestras procedentes de África (Guinea y Costa de Marfil). Esto sugiere que las poblaciones africanas de *A. aegypti* introducidas durante el comercio de esclavos han persistido en Boa Vista, resistiendo las campañas de erradicación (Mousson 2005).

El estudio de Bosio (2005) de la población de *Ae. aegypti* en Tailandia, presento diversidad genética fue mucho menor que la encontrada en otros estudios de *Ae. aegypti* en el que se analizaron las secuencias de ND4. La falta de aislamiento por distancia y estimaciones del flujo de genes entre las colecciones indican que las poblaciones pueden haber experimentado importantes cuellos de botella en que se establecieron en diferentes zonas, muy probablemente a través de la circulación de los mosquitos.

La similitud genética entre Central y del Norte y del Sur las poblaciones puede reflejar una ascendencia común en lugar de seguir el flujo de genes en una región tan grande. NSTR alta estimada entre la población en las proximidades es probable el resultado de la deriva genética y los dos últimos esfuerzos de control.

da Costa-Ribeiro (2006) utilizó marcadores de isoenzimas para investigar la estructura genética del mosquito vector *Aedes aegypti* con muestras recogidas a intervalos trimestrales en 14 distritos de Río de Janeiro desde diciembre de 2002 a diciembre de 2003. Se detectaron niveles elevados de diferenciación genética (es decir, altos valores de F_{ST} y valores significativos de p), que tendían a persistir a lo largo de todo el año.

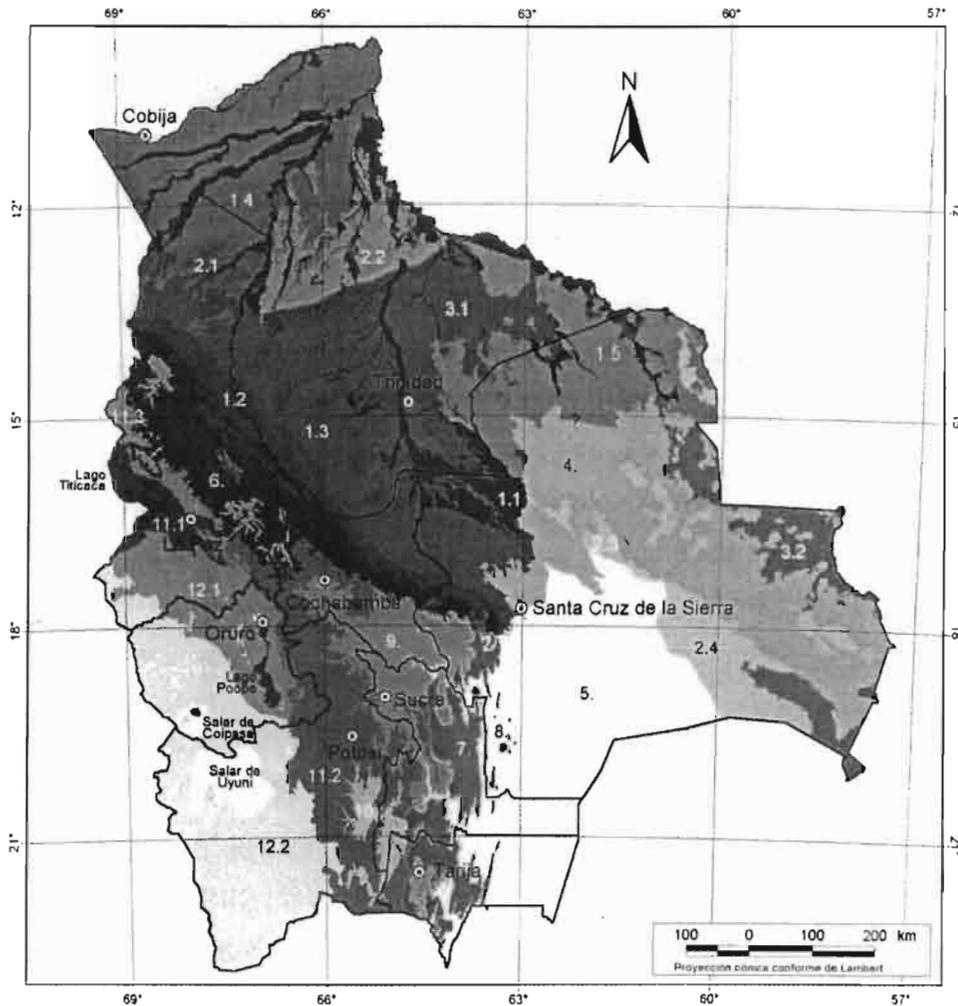
La especie no aprovecha los caminos y vías férreas para propagarse. La estructura genética fue más elevada en la estación de las lluvias, lo que sugiere una baja dispersión del *Ae. aegypti* en la temporada en que todas las epidemias de dengue se han informado en la ciudad.

Herrera (2006) investigando 24 muestras recogidas de ocho regiones geográficas separadas por un máximo de 1.160 km. Examinó la distribución de un 359-pares de bases de la región NADH deshidrogenasa subunidad 4 en el gen mitocondrial de 1144 especímenes de *Ae. aegypti* de ocho colecciones. Este gen fue amplificado por la reacción en cadena de la polimerasa y fue sometido a la prueba de variación usando solo el análisis de polimorfismo de conformación. Siete haplotipos se detectaron en toda Venezuela y estos se clasifican en dos clados. Mostraron una diferenciación significativa a entre las colecciones y estas fueron genéticamente aisladas por la distancia.

Scarpassa (2008) realizó el análisis genético utilizando muestras de *Ae. aegyptia* partir de 14 localidades en el norte, sureste, noreste y las regiones centrales de Brasil. Diez haplotipos se observaron, y análisis de clúster reveló 2 grupos (línejos) separados por 8 fija las mutaciones, lo que sugiere que el *Ae. aegypti* brasileño probablemente vinieron de Oriente y Occidente de África. Teniendo en cuenta todas las muestras genéticas y las distancias geográficas, se correlacionó significativamente (r^2 0,332; P 0,038), en apoyo del aislamiento por la distancia (IBD), pero no se detectó correlación para ninguna región en particular, lo cual es coherente con las migraciones humanas y los intercambios comerciales.

4. Metodología

4.1. Ubicación y Descripción del Área de estudio. (Navarro G. 2002)



Ecoregiones		Vertiente Oriental y Valles interandinos		Autores: P.L. Ibsch ¹ , S.G. Beck ² , B. Gerkmann ¹ & A. Carretero ²
Tierras Bajas 1. Sudoeste de la Amazonia 1.1 Bosques Amazónicos de Inundación 1.2 Bosques Amazónicos Subandinos 1.3 Bosques Amazónicos Preandinos 1.4 Bosques Amazónicos de Pando 1.5 Bosques Amazónicos de Beni y Santa Cruz 2. Cerrado 2.1 Cerrado Paceño 2.2 Cerrado Beniense 2.3 Cerrado Chiquitano 2.4 Cerrado Chaqueño 3. Sabanas Inundables 3.1 Sabanas Inundables de los Llanos de Moxos 3.2 Sabanas Inundables del Pantanal 4. Bosque Seco Chiquitano 5. Gran Chaco	6. Yungas 7. Bosque Tucumano-Boliviano 8. Chaco Serrano 9. Bosques Secos Interandinos 10. Prepuna	Cordilleras Altas y Altiplano 11. Puna Noriña 11.1 Puna Húmeda 11.2 Puna Semihúmeda 11.3 Vegetación Alisandina de la Cordillera Oriental con Pisos Nivales y Subnivales 12. Puna Sureña 12.1 Puna Seca 12.2 Puna Desértica con Pisos Nivales y Subnivales de la Cordillera Occidental	¹ Fundación Amigos de la Naturaleza ² Herbario Nacional de Bolivia.	

● Capital departamental
 — Límite departamental

Mapa de las ecoregiones de Bolivia.



4.1.1 Región Gran Chaco

La ubicación geográfica de esta Ecorregión se extiende desde Chuquisaca (L. Calvo). Santa Cruz (Cordillera, Chiquitos, Busch), Tarija (Gran Chaco). Límite Norte del Gran Chaco: línea Santa Cruz – Serranías de Chiquitos – Pantanal (Puerto Suárez). Continuación en Paraguay y Argentina. Abarcando una superficie de 105.006 Km² con una altitudes que oscila entre los 200 a 600 m.s.n.m.

La temperatura promedio anual es de 25 – 26 C. Máxima hasta 48 C (el polo de calor de América del Sur se encuentra en la zona fronteriza boliviana – argentina). Influencia fuerte de vientos fríos del Sur (*surazos*): mínima hasta 1 C, con una precipitación promedio anual de 400 – 900 mm con aproximadamente 6 a 10 meses áridos.

Muestra un paisaje con pocas colinas y serranías pequeñas, con una vegetación de bosque seco deciduo bajo con suculentas columnares (5 – 15 M). Diferenciación según humedad. Vegetación azonal: por ejemplo algarrobales con *Prosopis nigra* y *Burnesia sarmentoi* (capa freática alta), bosques de *Copernicia alba* (estacionalmente inundado). En suelos rojos bien drenados con afloramientos rocosos, vegetación de Cerrado Chaqueño (Abayoy, ver arriba). El número total de especies de árboles (estimación) es de 50 a 100 contando son un número total de especies de epifitas (estimación) < 50 (sobre todo Bromeliacea y Orchidaceae).

- **Barrial** S 21°54'59.6" O 63°37'11.6"
- **Machareti** S 20°49'06.7" O 63°21'39"
- **Palmar** S 21°52'42.1" O 63°36'42.5"
- **Caiza** S 21°49'28.4" O 63°35'17.8"
- **Bagüal** S 21°50'45.1 O 63°23'14.9"
- **Yacuiba** S 22°00'42,1" O 63°40'42,5"

4.1.2 Bosques Amazónicos de Pando

Se extiende en parte de Santa Cruz (Andrés Ibáñez), Beni (Vaca Diez), Mamoré, (Iténez), La Paz (Iturrealde), Pando. Continuación en Perú y Brasil, abarcando una superficie de 71.217 Km.2, con una altitud desde los 100 hasta los 300 m.s.n.m.

Presenta una temperatura promedio anual da 24° – 27° C. con una precipitación promedia anual de 1.500 – 2.400 mm mostrando de 2 -3 meses áridos.

Presenta un paisaje con llanura amazónica: en el Oeste levemente ondulado, hacia el Este plano con afloramientos del escudo Precámbrico, con una vegetación que presenta bosque húmedo casi siempre verde, (muy) alto (30 / -45 m) en tierra firme; div. Tipos de bosques de inundación (ver subcoregión 1.1.); bosques de bambú (tacuara). Azonal: Palmares con *Mauritia flexuosa*. Cuenta con un número total de especies de árboles (estimación) > 800 con un número total de especies de epifitas (estimación) > 100 (sobre todo Orchidaceae y Araceae)

Presenta particularidades biológicas tales como la presencia de una familia endémica y monotípica de árboles pequeños (Dyalipetalanthaceae) y en el extremo Noreste del país, sobre el Escudo Precámbrico, existe un tipo de bosque más bajo y distinto, ya reconocido por la primera expedición RAP en 1992 (Montambault 2002), y confirmado por la reciente en 2002. Esta pequeña área en la provincia F. Román del departamento Pando y en Vaca Diez del Beni es la parte más meridional de los bosques de Tapajoz y Madeira y seguramente una de las áreas más diversas de la Amazonía boliviana.

El uso del suelo es más que todo para el aprovechamiento de madera, colonización creciente. Grandes regiones tradicionalmente aprovechadas por recursos forestales no – maderables: goma y castaña.

4.1.3 Bosques Amazónicos de Beni y Santa Cruz

Esta ecoregión se distribuye a lo largo de Beni (Iténez, Mamoré), Santa Cruz (Ñuflo de Chávez, Velasco, Santiesteban, Sara, Ichilo). Continuación en Brasil (donde un gran porcentaje de bosques ya está eliminado). Con una superficie de 59.905 Km.2, con una altitud entre los 150 y 400 m.s.n.m.

Presenta una temperatura promedio anual de 23 – 25 C, con una precipitación promedia anual de 1.200 – 2.000 mm presentando 2 – 5 meses áridos.

Presenta una paisaje de planicies, penillanura precámbrica, con un bosque siempre verde, transición hacia bosques semidecuidos estacionales del Bosque Seco Chiquitano (>25

(30) m). En depresiones inundables con *Hevea brasiliensis* y *Cariniania domestica*. El número total de especies de árboles (estimación) 650 – 800 y un número total de especies de epifitas (estimación) >150 (sobre todo Orchidaceae)

Última parte meridional extensa de los bosques amazónicos sobre el Escudo Precámbrico, no tan diverso como los de más al Norte en especies y endemismo. Bosques húmedos muy recientes, parcialmente de pocos siglos de edad (Mayle. 2000)

Uso del suelo en más que todo con Áreas protegidas y el aprovechamiento de madera, colonización y agricultura creciente, hasta agricultura mecanizada.

- **La Guardia** S 17°53'36" O 63°19'30"
- **Santa Cruz** 17°47'00" O 63°11'00"
- **Parque Ecológico Yvaga Guazú** 17°52'1,3" O 63°10'50"
- **Sombrerito** 17°53'22,8" O 63°22'02,5"

4.1.4 Bosques Amazónicos Preandinos

Debe entenderse que la denominación es principalmente geográfica, ya que se trata de una región netamente amazónica (suffix latín *prae* = ante, delante de, al frente). Sin embargo, debe considerarse una influencia ecológica de Los Andes que aumenta con la distancia decreciente hacia las Serranías Subandinas (p. ej. Mayor precipitación). El límite de los Bosques Preandinos, en el caso que exista una transición directa hacia los bosques amazónicos más (nor) orientales de las llanuras del Beni y de Pando, es arbitraria, definiéndose por la distancia de 100 Km de las últimas estribaciones andinas.

Esta ecoregión comprende los departamentos de Beni (Ballivián), Cochabamba (Ayopaya, Chapare, Tiraque, Carrasco), La Paz (Iturrealde, F. Tamayo, Larecaja) Santa Cruz (Ichilo, Sara, A. Ibáñez. Continuación en el Perú. Con una superficie de 58.308 Km.² con una altitud que oscila entre los 150 – 500 m.s.n.m.

La temperatura promedio anual es de 24 – 28 C con una precipitación promedio anual de 1.300-> 7.000 mm con pocos meses áridos entre 0 – 2.

Muestra un paisaje con colinas suaves, altas terrazas aluviales, ondulaciones y planicie. Con una vegetación con un número total de especies de árboles (estimación) > 800 en un bosque húmedo, mayormente siempre verde, alto (30 - /- 45 m). Árboles con aletones, árboles emergentes; en algunas partes destruido (Chapare). Azonal: Palmares con *Mauritia flexuosa*, con un número total de especies de epifitas (estimación) >200 (sobre todo Orchidaceae y Araceae)

Es una zona de transición hacia los bosques subandinos con relativamente pocas especies andinas, *Talauma boliviana*, único representante de las Magnoliaceae en Bolivia y, endémico. El uso del suelo es más que todo en áreas de colonización; agricultura en pequeña escala de campesinos provenientes del Occidente del país hasta gran escala y mecanizada (especialmente Chapare Cochabamba, y en Sara e Ichilo, Santa Cruz), muchos bosques secundarios. Aprovechamiento forestal, zona hidrocarburífera importante.

- **Santa Fé** S 15°48,34 O 67°37,22
- **Alcoche** S 15°75,159 O 67°67,453
- **Caranavi** S 15°50'0,4" O 67°33'55"

4.2 Recolección de mosquitos de zonas urbanas y rurales.

Se seleccionaron tres localidades urbanas que son: Santa Cruz, Yacuiba y Caranavi con sus respectivas comunidades rurales: La Guardia y Sombrerito para Santa Cruz; Caiza, El Palmar, Macharetí, Barrial y Bagual para Yacuiba; Santa Fé y Alcoche para Caranavi (ver anexo 1).

Para la obtención de datos se realizaron encuestas entomológicas (ver anexo 2) donde se recolecto pupas y en algunos casos larvas de los diferentes criaderos encontrados en frascos etiquetados con datos de Unidad de investigación (UI) ubicación geográfica y tipo de criaderos, después se procedió a la cría de las mismas para la obtención de adultos, una vez emergidos los mosquitos se les daba muerte por exposición a cloroformo (tubo de muerte) se los depositaba en tubos eppendorf individualmente con un numero de mosquito único para el traspaso a base de datos.

Para los mosquitos colectados en Yacuiba en diciembre 2005 a parte de enero y parte de febrero 2006, se capturaron mosquitos adultos con el método de captura de cebo humano.

Esta técnica deriva de la captura clásica sobre hombre utilizada en colectas de anófeles (*Anopheles spp.*) descrita por Haddow en 1954. Cada mosquito capturado se expuso a cloroformo (tubo de muerte) luego se lo depositó en tubos eppendorf individualmente con un número de mosquito único para el traspaso a base de datos.

4.3 Procesamiento de muestras.

Los mosquitos recolectados fueron clasificados morfológicamente según el método preconizado por McClelland (1971). Que se basa en la disposición de escamas blancas en los tergitos (segmentos abdominales) siendo clasificados como: Tipo Formosus (ausencia de escamas blancas), Tipo G (presencia escasa a media de escamas blancas en el primer tergito), Tipo H (presencia media a abundante de escamas blancas en el primer y/o segundo tergito) y Tipo queenslandensis (presencia abundante de escamas blancas en todos los tergitos) (ver anexo 3).

Los datos generados fueron agrupados en tres regiones de Bolivia que son: Yungas (Caranavi-Santa Fe-Alcoche), Llanos Tropicales (Santa Cruz-La Guardia-Sombrerito) y Chaco (Yacuiba-Caiza-Palmar-Barrial-Machareti-Bagual). Después de dicha clasificación fueron contrapolados para la comparación respectiva entre zona rural vs. urbana y se analizó estadísticamente para obtener significancia en el programa estadístico especializado "R".

Después de todo el análisis morfológico fueron colocados en tubos eppendorff individualmente con papel filtro y sílica gel para evitar la reproducción de hongos en los mismos, luego eran trasladados hasta el laboratorio donde fueron procesados para el análisis genético (CENETROP- Lab. de Entomología Médica y Lab. de Biología Molecular).

4.4 Análisis de polimorfismo de los Loci Microsatélites

Para la extracción de DNA se los procesó con el protocolo de CTAB individualmente (ver anexo 4) (Cecile 2002), seleccionando 45 individuos por población para el proceso de amplificación (PCR) con 9 pares marcadores microsatélites específicos para *Ae. aegypti* 34/72, 38/38, T3A7, AED19, AEDGA, A10, AEDC, H08, M313, marcados con fluorocromo, con sus respectivos protocolos de amplificación cada uno, (ver anexos 5) (CENETROP Lab. de Biología Molecular).

El siguiente paso a seguir fue realizado en el Laboratorio de Insectos Nocivos (LIN - Francia) que consistió en el secuenciamiento de las muestras amplificadas, para obtener los resultados se tuvo que ser procesados con un programa especializado GenMapper® (interpretador de secuencia) (Raymond & Rousset, 1995) (ver anexo 6). Dicho programa arroja tablas de datos que pueden ser leídos por un programa genético poblacional Gen Pop 4, este último programa especializado en genética de poblaciones.

Dichos programas han sido usados para determinar las características dinámicas-poblaciones de los mosquitos en muchas investigaciones anteriores.

Se calculo la desviación de equilibrio de Hardy-Weinberg, proporciones genotípicas de desequilibrio en el ligamiento genético, y la diferenciación genética se puso a prueba utilizando el software GENEPOP (v. 3.3). Raymond & Rousset, 1995, el Fis y FST fueron estimados según lo descrito por Weir y Cockerham 1984, el déficit heterocigotos se puso a prueba utilizando una prueba exacta de procedure., el desequilibrio global entre pares de loci fue probada por cada muestra.

Diferenciación genotípica fue probada mediante el cálculo el valor de P, una estimación de FST. La importancia global de múltiples ensayos se calculó utilizando el combinado Fisher probabilidad de prueba. Aislamiento por distancia fue evaluada por la determinación de la importancia de la correlación entre las estimaciones Fst y distancias geográfica. El nivel de significación de cada prueba se ajustó, sobre la base del número de pruebas realizadas, de acuerdo con el método secuencial de Bonferroni.

5. Resultados y Discusion.

5.1 Captura y Colecta de Culícidos.

Los mosquitos colectados en el año 2006 fueron suministrados por el Investigador Gilbert Le Goff (IRD), el resto de las colectas fueron programadas de manera que tanto el área rural como urbana coincidieran en época. La selección tuvo como meta obtener un número muestral más o menos similar en cada región. Tabla 1.

Lugar	fecha de colecta	N. ind. Colectados	Hembras morfología	Hembras genética
Yacuiba	enero 2006 y agosto 2007	942	400	45
Bagual	agosto del 2007	30	17	-
Caiza	enero 2006 y agosto 2007	66	40	30
Macharefí	agosto del 2007	16	8	-
Palmar	enero 2006 y agosto 2007	42	25	11
Caranavi	agosto del 2007	321	144	45
Santa Fe	agosto del 2007	32	14	20
Alcoche	agosto del 2007	46	20	24
Santa Cruz	noviembre del 2007	165	165	49
La Guardia	noviembre del 2007	82	52	30
Sombrerito	noviembre del 2007	27	19	11
Totales		1769	904	265

Tabla 1. Ubicación, fecha de colecta y número de mosquitos colectados

5.2 Estudio y análisis morfológico.

Las 878 hembras de las regiones estudiadas presentan muestran una predominancia de morfotipo "H", seguido por "G" y por último el morfotipo Formosus "F", estos porcentajes son sobre el 100% de muestras tomadas, los mismos que serán objeto de discusión más adelante. La diferencia en cuanto a morfotipos entre las tres regiones en zonas urbanas es significativa ($4.718e-10$) mientras que en zonas rurales no es significativa (0.2060).

La diferenciación de la homogeneidad de Pearson (programa estadístico R) de las zonas urbanas versus rurales en las regiones, sugiere que no existe una diferencia significativa entre el área rural y el área urbana en la región de yungas. En la región de los Llanos orientales

presenta una diferencia medianamente significativa, mientras que en la región chaqueña la diferencia es evidentemente significativa. (tabla 2).

Región	χ^2	G L	Valor P
Yungas	2,6922	2	0.2603
Llanos Orientales	9,4736	2	0.008766
Chaco	10,7453	2	0.004642

Tabla 2. Diferenciación morfológica entre áreas rurales y urbanas de cada región estudiada

Las regiones estudiadas son representadas en gráficos expresados en porcentajes de hembras con el morfotipo contraponando entre el área rural versus el área urbana.(grafico 1, 2 y 3)

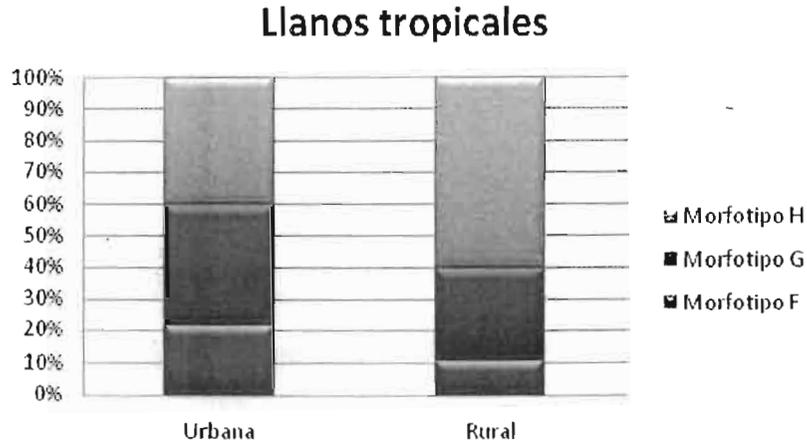


Gráfico 1. Diferenciación morfológica entre áreas rurales y urbanas de la región Llanos Tropicales



Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano

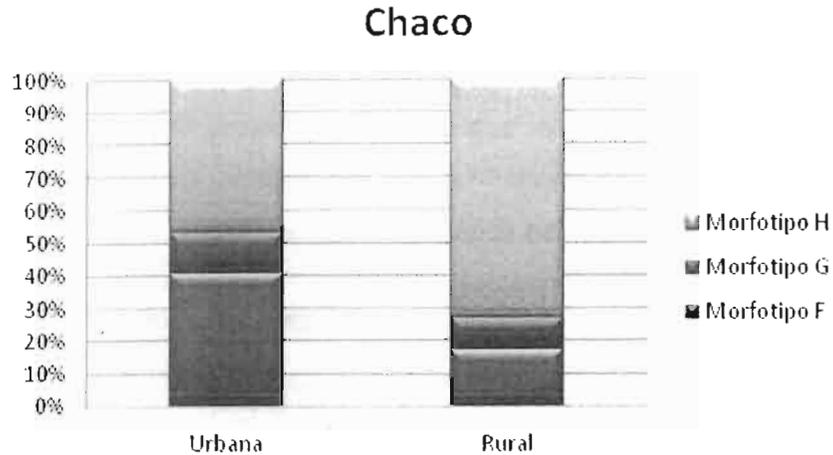


Grafico 2. Diferenciación morfológica entre áreas rurales y urbanas de la región Chaqueña.

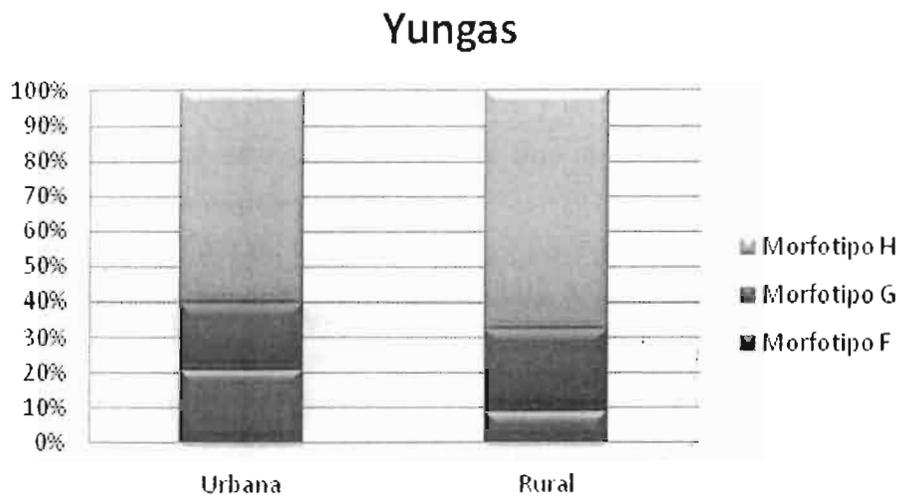


Grafico 3. Diferenciación morfológica entre áreas rurales y urbanas de la región Yungas.

Interpretación de datos morfológicos.

Los cuatro morfotipos se encuentran en las regiones de Bolivia, incluidas las subespecies *Aedes (Stegomyia) aegypti formosus* y *Aedes (Stegomyia) aegypti aegypti* y su variedad *queenslandensis* McClelland (1971). Observando dicho resultado nos damos cuenta que las únicas muestras de *queenslandensis* fueron colectadas al sur del país. (ver anexo 7).

McClelland describe a la subespecie *Ae. aegypti formosus* como selvático, en Bolivia la presencia del morfotipo *formosus* se encuentra tanto en área urbana como rural, mas es en

área urbana donde se encuentra en mayor porcentaje dicha variedad. Por otra parte Mattingly (1957–1966) sostiene que la variedad *queenslandensis* es altamente doméstica, sin embargo la mayor cantidad de muestras de esta variedad provienen de un cementerio alejado de un área rural de la región chaqueña.

Hartberg *et. al.*, (1986) puso de manifiesto que el patrón escala del tergito abdominal en de *Ae. aegypti* parece a ser controlados por un importante sistema poligénico. Por lo tanto considera que sería mejor utilizar las diferencias en la ecología, la fisiología y el comportamiento cuando se trata de dividir a *Ae. aegypti* en diferentes especies o/y subespecies.

Mientras que el patrón de escala del tergito abdominal puede ser útil para distinguir las poblaciones, no podrá ser válida como la base exclusiva de taxonomía para clasificación. Hartberg (1969) puso de manifiesto que la descendencia femenina de 35 formosus y las formas típicas recogidas en Dar-es - Salaam, Tanzania, no eran de una determinada variedad, o que las poblaciones eran simplemente ampliamente polimórficas para el tergito abdominal.

Es evidente que tanto en la población rural y urbana de *Aedes aegypti* en Bolivia son altamente polimórficas, por este motivo en estas tres regiones no se podría identificar dichas subespecies propuesta por Mattingly (1957).

La diferencia en proporciones de morfotipos entre las poblaciones urbana y rurales, radican en la gran variedad de criaderos que pueden presentar en el área urbana, contrariamente que en el área rural donde los criaderos son constantes y de poca abundancia. Donde estaríamos deduciendo que el morfotipo dependería más del factor medio ambiente o del ambiente en el que se desarrollan.

5.3 Análisis genético poblacional

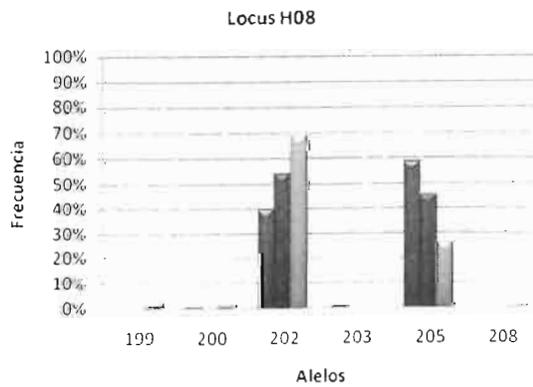
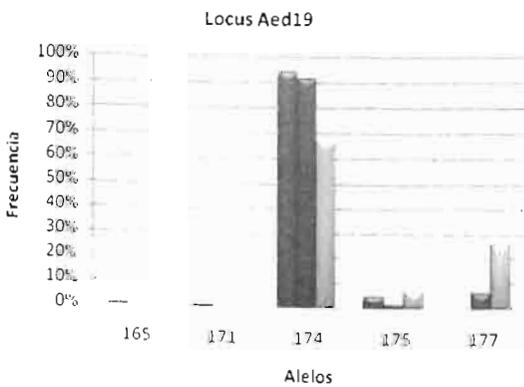
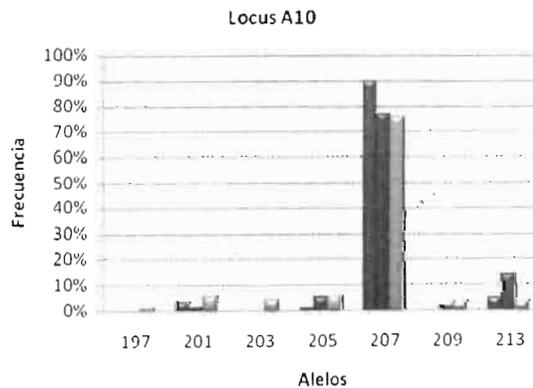
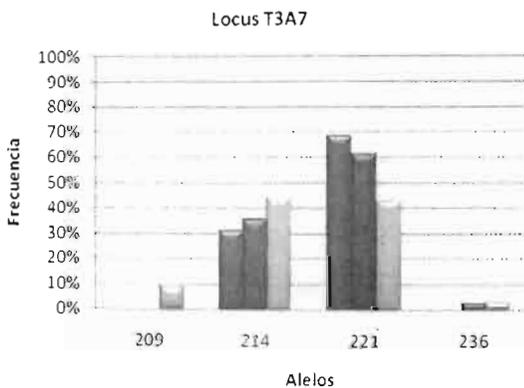
5.3.1 Diversidad genética entre regiones.

Los 9 microsatelites usados fueron polimórficos dando un total de 38 alelos (73, 77, 82, 83, 86, 88, 90, 114, 121, 124, 127, 131, 136, 144, 165, 171, 174, 175, 177, 197, 199, 200, 201, 202, 203, 203+, 205, 205+, 207, 208, 209, 209+, 213, 214, 214+, 220, 221, 236), con un promedio de 4.22 alelos por locus. Para la región chaqueña (Yacuiba – Palmar – Caiza) el promedio de alelos por locus es de 3.56, para la región de los Llanos Orientales (Santa Cruz –

La Guardia – Sombrerito) es de 2.78 y para la región de Yungas (Caranavi - Santa Fe – Alcoche) es de 2.89.

Para que la inusual composición alélica sea evidenciada se determinó que dentro de los 38 alelos encontrados 12 son privados (alelos presentes en una población determinada únicamente) (Slatkin 1991, 1985b), que se distribuyen en dos regiones; en la región chaqueña con 7 alelos privados (90, 197, 203, 136, 209, 199, 208) , también en la región de Yungas con 5 alelos privados (82, 77, 165, 171, 203).

En cuanto a la diversidad alélica, la región con mayor índice fue la Chaqueña con un 84,21% (32 alelos), seguida por la región yungas con el 68,42% (26 alelos) y por último la región de llanos tropicales con 65,79% (25 alelos).



Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano

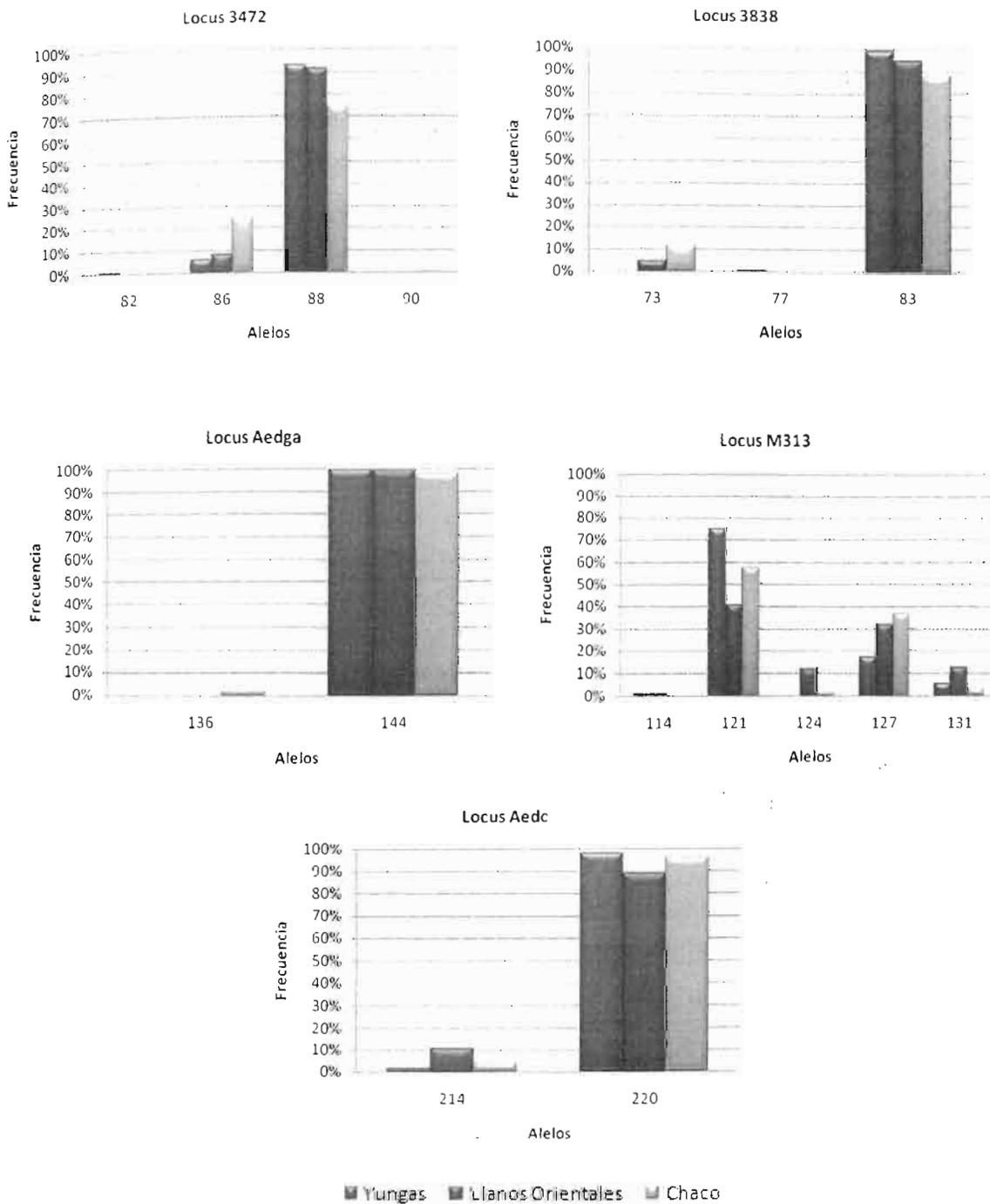


Gráfico 4. Frecuencia alélica de los 9 locus analizados distribuidos en regiones para evidenciar la presencia o la ausencia de alelos dentro de dichas poblaciones.

<i>N&C</i>									
χ^2 -val	0,0007	0,0005	0,2359	0,0259	0,6378	0,0150	1,0000	0,0291	0,0000
\sqrt{all}	1	1	2	1	1	1	1	1	1
f_{exp}	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
f_{obs}	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
χ^2 -is	-	-	-0,0250	-	-	-	-	-	-
<i>N&C</i>									
χ^2 -val	-	-	1,0000	-	-	-	-	-	-
\sqrt{all}	3	3	4	3	2	3	2	2	2
f_{exp}	0,67	0,62	0,57	0,51	0,52	0,49	0,45	0,45	0,42
f_{obs}	0,41	0,60	0,36	0,54	0,18	0,42	0,50	0,35	0,28
χ^2 -is	0,3962	0,0270	0,3700	-0,0465	0,6610	0,1486	-0,1040	0,2267	0,3333
<i>N&C</i>									
χ^2 -val	0,0349	1,0000	0,0045	0,7285	0,0611	0,3680	1,0000	0,3479	0,0544
\sqrt{all}	2	2	2	2	1	2	1	1	2
f_{exp}	0,26	0,42	0,07	0,15	0,00	0,09	0,00	0,00	0,03
f_{obs}	0,29	0,55	0,07	0,16	0,00	0,10	0,00	0,00	0,03
χ^2 -is	-0,1429	-0,3333	-0,0196	-0,0588	-	0,0390	-	-	-
<i>N&C</i>									
χ^2 -val	1,0000	0,5051	1,0000	1,0000	-	1,0000	-	-	-
\sqrt{all}	3	3	3	2	1	3	1	2	4
f_{exp}	0,51	0,48	0,33	0,11	0,00	0,22	0,00	0,14	0,17
f_{obs}	0,50	0,36	0,35	0,11	0,00	0,24	0,00	0,15	0,18
χ^2 -is	0,0181	0,2523	-0,0697	-0,0400	-	-0,0975	-	-0,0556	-0,0619
<i>N&C</i>									
χ^2 -val	0,1228	0,2360	1,0000	1,0000	-	1,0000	-	1,0000	1,0000
\sqrt{all}	2	1	2	2	2	2	1	2	1
f_{exp}	0,11	0,00	0,07	0,28	0,25	0,12	0,00	0,14	0,00
f_{obs}	0,12	0,00	0,07	0,26	0,27	0,09	0,00	0,15	0,00
χ^2 -is	-0,0417	-	-0,0250	0,0854	0,1111	0,2969	-	-0,0556	-
<i>N&C</i>									
χ^2 -val	1,0000	-	1,0000	0,5491	1,0000	0,1590	-	1,0000	-
\sqrt{all}	2	3	5	2	2	2	2	2	4
f_{exp}	0,41	0,54	0,46	0,48	0,48	0,5	0,50	0,51	0,47
f_{obs}	0,44	0,73	0,42	0,52	0,73	0,44	0,41	0,30	0,50
χ^2 -is	-0,0794	-0,3793	0,0779	-0,0833	-0,5385	0,1202	0,1888	0,4154	-0,0763
<i>N&C</i>									
χ^2 -val	1,0000	0,3538	0,7665	1,0000	0,1908	0,5408	0,4194	0,0856	0,0144
\sqrt{all}	3	2	4	5	3	5	3	2	4
f_{exp}	0,47	0,48	0,56	0,63	0,61	0,68	0,28	0,3	0,5
f_{obs}	0,26	0,36	0,49	0,21	0,20	0,21	0,14	0,24	0,17
χ^2 -is	0,4518	0,2593	0,1233	0,6719	0,6842	0,6905	0,5263	0,2195	0,6672
<i>N&C</i>									
χ^2 -val	0,0106	0,5375	0,1053	0,0000	0,0175	0,0000	0,0067	0,4111	0,0000

5.3.3 Diversidad alélica entre poblaciones urbanas y rurales.

Al comparar los alelos presentes en poblaciones urbanas y rurales se puede apreciar que hay un buen número de alelos no compartidos, es decir, que algunos alelos presentes en la población urbana no se encuentran en población rural, en la región de Yungas los alelos "privados" que se encuentran en la población de *Aedes aegypti* que habita el área urbana son 8 (82, 205, 77, 165, 171, 200, 203, 114)(fig. A), en la región de llanos orientales se ve claramente que ambas poblaciones son mucho mas homogéneas, es decir, solo presentan un alelo en la población urbana que no existente en la población rural (201)(fig. B), mientras que en la región chaqueña son 6 los alelos ausentes en la población rural (90, 197, 136, 200, 208, 124)(fig. C), mostrando una diferencia poblacional importante.

Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano

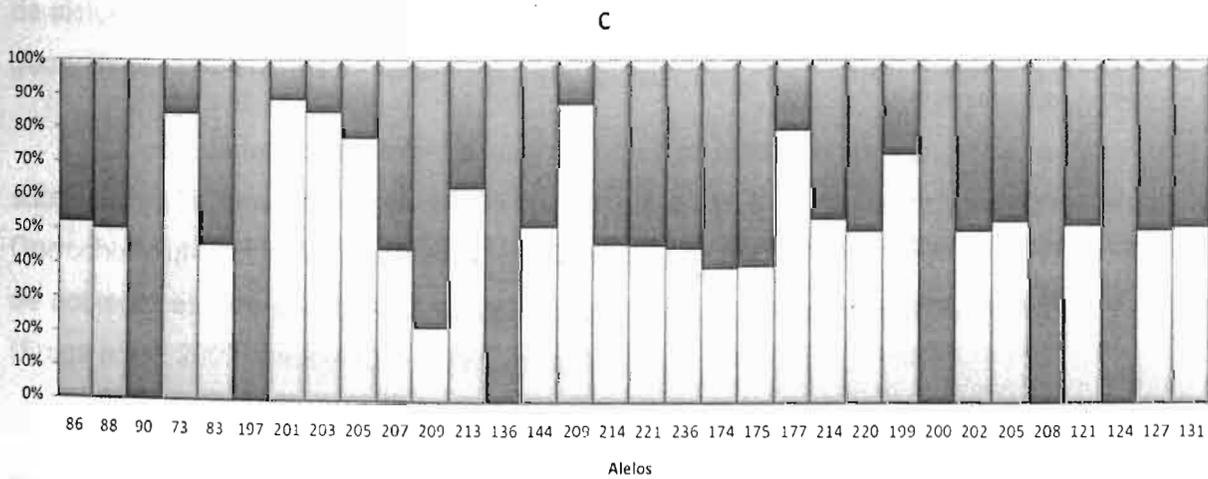
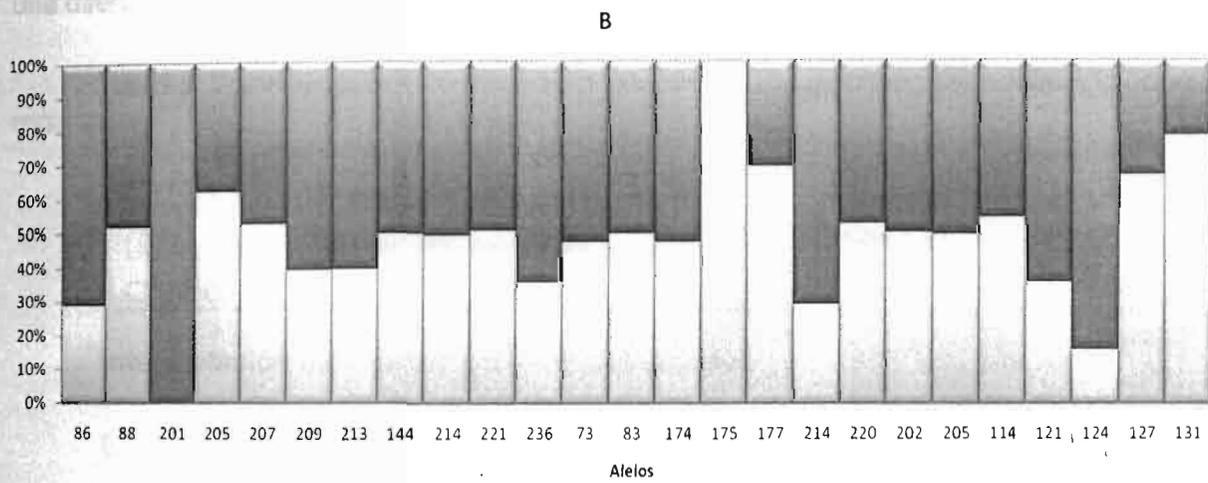
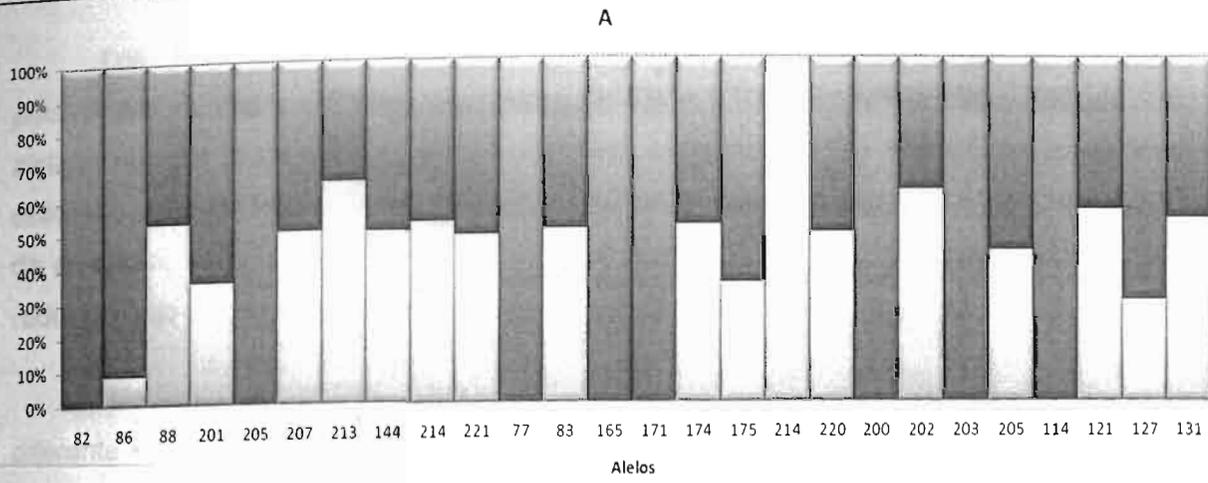


Figura 5. Diversidad alelica de las ecoregiones, comparación entre áreas urbanas vs rurales: Fig A Region Yungas, Fig B Region años Orientales y Fig C Chaco. □ Rural ■ Urbano

5.3.4 Diferenciación genética entre poblaciones Rurales y Urbanas.

Los microsatélites revelaron una diferenciación genética significativa entre las poblaciones rurales y urbanas, con media de $F_{ST} = 0,024$. No se ha detectado un patrón de aislamiento por distancia, y uno de los más altos niveles de diferenciación genética fue estimada entre las poblaciones chaqueñas, que se encuentran separadas por pocos kilómetros de distancia, cada uno en diferente medio ambiente ($F_{ST} = 0,0318$). Estos datos sugieren un reducido flujo de genes entre poblaciones urbano y rural de *Ae. aegypti* en Bolivia.

Mediante el análisis génico de Markov, la población Rural es significativamente diferente en comparación de la población Urbana en cada una de las regiones, cabe resaltar una diferencia significativamente fuerte en la región chaqueña. (Tabla 5)

Tabla 5. Significancia de la diferencia genética entre poblaciones rurales y urbanas por regiones.

Región	X ²	gl	F _{st}	Valor -p
Yungas	33,748820	16	0,0232	0,005872
Llanos Orientales	34,388832	16	0,0169	0,004814
Chaco	46,893129	18	0,0318	0,000219

Interpretación de análisis genético poblacional

Existen tres poblaciones de *Aedes aegypti* genéticamente distintas entre sí, la presencia de alelos privados (Slatkin 1981, 1985b) proponen que estas poblaciones se aíslan por factores geográficos, ambientales o humanos.

La alta variabilidad genética que se ha encontrado en esta especie, sugiere que son subpoblaciones genéticamente diferenciadas entre los lugares analizados (Yan *et. al.*,1999, Gorrochotegui-Escalante *et. al.*,2000, de Souza *et. al.*,2000). Varios estudios sobre la genética de poblaciones han evaluado la variación y estructura genética de poblaciones de *Ae. aegypti* (Fraga *et. al.*,2003, Paupy 2003-2005 , Vera Margaret 2008).

Presentan un déficit de heterocigotos en la mayoría de los locus observados, provocando el desequilibrio H-W, es decir, desequilibrio por endogamia. Podemos explicarlo de la siguiente manera: La escases de lluvias conlleva a una reducción en la disponibilidad de sitios para la ovoposición, que sirven para estimular la dispersión a nuevos sitios, por tanto, el

flujo genético. Esta explicación es coherente con nuestras observaciones de los valores bajos de F_{ST} (menos diferenciación genética) esta misma explicación propone Costa-Ribeiro (2006).

A nivel local, existe una diferencia genética significativa entre poblaciones rurales y urbanas, lo que nos lleva a deducir que las poblaciones de *Aedes aegypti* que habitan en áreas rurales no son las mismas poblaciones que habitan en áreas urbanas, ya que la presencia de alelos privados está delimitada en gran porcentaje a las poblaciones de área urbana.

Hay tres ideas que podríamos manejar para explicar las diferencias genéticas entre poblaciones de *Aedes aegypti* de áreas rurales y urbanas, que son:

La primera podría ser la Selección, es decir la capacidad heredada que posee *Ae. aegypti* para sobrevivir y reproducirse, y funciona de tal manera que con el tiempo, los genotipos superiores aumentan su frecuencia en la población.

En este aspecto tiene mucho que ver las presiones a las que está expuesta la población y la reacción que esta causa en las mismas. Como por ejemplo, puede ser la aplicación de insecticida y la práctica de almacenamiento de agua. McCauley (1991) demostró los cambios genéticos que provoca el uso de insecticidas, en Costura Reap, Por el contrario, C Paupy (2005) en Kampong Som, tiene menos tratamiento con insecticida y, por tanto, *Ae. aegypti* es menos diferenciadas genéticamente.

Esta idea resulta ser nula si se toma en cuenta el tratamiento de insecticidas pues, en Bolivia los tratamientos con insecticidas no son constantes ni tampoco presionan a las poblaciones de *Ae. aegypti* a modificar su genoma, pues ninguna población de *Ae. aegypti* Bolivia presenta o ha desarrollado resistencia a insecticidas. Por otra parte en poblaciones rurales, por lo general, los tratamiento con insecticidas son esporádicos y de bajo rendimiento.

La segunda es la deriva genética, que se refiere a las fluctuaciones en las frecuencias alélicas que ocurren por casualidad (en particular en las poblaciones pequeñas) dentro del genoma de *Ae. aegypti*, como resultado del muestreo al azar entre los gametos. La deriva disminuye la diversidad dentro de una población de estos, porque tiende a causar la pérdida de alelos poco usuales, reduciendo el número total de alelos.

La tercera es la migración, esta características presentan falencias entre poblaciones rurales y urbanas, El efecto isla de esta población podría ser por las características ecoregionales en las que se encuentran, las cuales son una barrera para poder interrelacionarse con el resto de las regiones, ya que el flujo genético es mínimo o el número de individuos que migran es insuficiente para que estos alelos se fijen en las demás poblaciones.

Podríamos decir que la migración está fuertemente relacionada con la disponibilidad de criaderos, es decir, que si los *Ae. aegypti* tienen criaderos constantes en un área, no se ven obligados a buscar nuevos criaderos, por ende, no hay desplazamiento de la población. Y viceversa, si no disponen de criaderos constantes se ven obligados a buscar nuevos criaderos en áreas nuevas. Este análisis de disponibilidad de criaderos y otros efectos ecológicos, fue evaluado por Huber *et. al.*,(2002) en Ho Chi Minh City, Vietnam.

Entonces la segunda y tercera hipótesis están relacionadas entre sí, ya que si el flujo genético baja la acción de deriva se activa y la evolución es más violenta. Estas hipótesis serian las más acertadas para la explicación de la diferencia genética entre las poblaciones de *Ae. aegypti* urbanas y rurales.

El hecho que estas poblaciones se encuentren en desequilibrio genético y con un bajo flujo génico nos demuestra que hay una adaptación local haciendo que evolucionen más fácilmente y en direcciones diferentes.

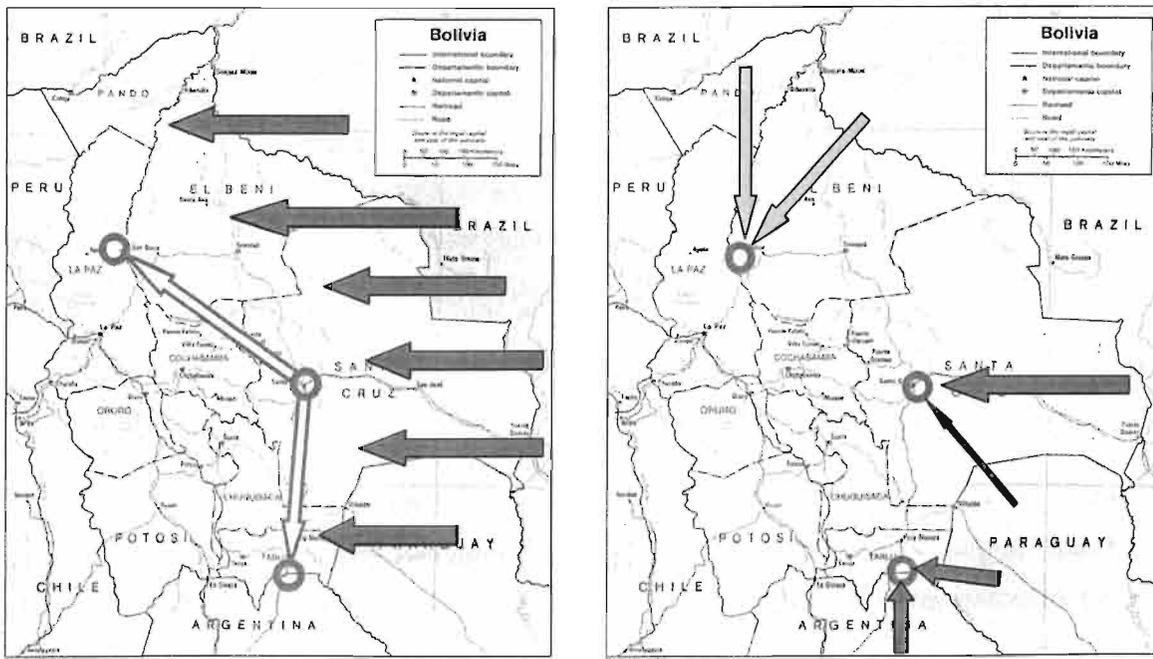
En Bolivia el morfotipo no parece estar relacionado con la genética, es decir, que las características fenotípicas (morfotipo) de *Ae. aegypti* estarían relacionadas con el ambiente en el que se desarrollan, o que *Ae. aegypti formosus* y *Ae. aegypti aegypti* han tenido un nivel de cruzamiento tan elevado que han llegado a formar un complejo genético único en nuestro territorio. De la misma manera Hartberg *et. al.*,(1986) puso de manifiesto que el patrón de morfotipo es determinado por un importante sistema poligénico, que se encuentra estrechamente relacionado con el medio ambiente.

Todos los datos generados apuntan que en Bolivia existen poblaciones genéticamente diferentes, ya sea por su ubicación geográfica, por el área en que se desarrollan o quizás por la data de la misma población, como se ha observado en estudios anteriores (Gorrochotegui 2002, Ayres 2003, Bosio 2005, Costa-da-Silva 2005, Herrera 2006, Paduan 2006, Bracco 2007, Scarpassa 2008).

La variabilidad genética que existe entre las poblaciones de Bolivia nos lleva a dos hipótesis:

La primera sostiene que las poblaciones de Bolivia se derivan en una de numerosas invasiones de una misma población que de acuerdo en la posición geográfica que quedaron fueron cambiando hasta este punto.

La segunda hipótesis sostiene que las poblaciones de Bolivia se derivan de numerosas invasiones pero de diferentes poblaciones, de acuerdo con el lugar de invasión y procedencia se fijaron en un lugar determinado y fueron cambiando hasta este punto.



Teniendo en cuenta las fuertes influencias que sufre Bolivia como país mediterráneo de los países vecinos, se puede pensar que en las diferentes regiones estudiadas se sufre influencia diferenciada, llegando a concentrar en Bolivia un complejo de linajes genéticos que llegaron a diferentes puestos de Sud América, como lo menciona Scarpassa explicando el por qué de los diferentes linajes presentes en Brasil.

Sobre la base de datos de isoencimas, Powell (1980) y Morlais (2002) sugieren que el *Ae. aegypti* poblaciones de América del Sur, el Reino Unido Los Estados, y el Caribe están genéticamente relacionados con los de África oriental. Más recientemente, 2 estudios de Bracco (2007), y Mousson (2005) mostraron que las poblaciones *Ae. aegypti* brasileñas están estrechamente relacionadas con las poblaciones de África y Asia. Failloux (2002) observó que *Ae. aegypti* de la Guayana Francesa y el Sureste Asia tuvo el mayor nivel de similitud genética, lo que sugiere que probablemente este mosquito se introdujo en las Américas procedentes de Asia.

Todas estas aseveraciones dan lugar a una hipótesis que explica la diferencia genética, que sostiene que:

Después de que factores geográficos y reacciones genéticas dividieran las poblaciones de *Ae. aegypti* en regiones, estas se concentraron en núcleos o asentamientos semi-urbanos a rurales, donde tenían mejor posibilidades de subsistir con criaderos proporcionados por los mismos habitantes.

Cuando estos asentamientos empezaron a crecer, también aumento la disponibilidad de criaderos, haciendo que las poblaciones de *Ae. aegypti* se concentrara mas en las urbes (zonas urbana) que aumentaban de tamaño sin orden ni control, que a los asentamientos que quedaron rezagados en el desarrollo (zona rural), induciendo a la población que se quedo en área rural a un efecto isla, por una baja dispersión de zonas urbanas y el bajo flujo génico hacia poblaciones rurales.

Factores climáticos tales como las precipitaciones son importantes en la generación de lugares de cría. La estación y periódicos lluvias podrían llenar contenedores, que se acumulan en los alrededores de las casas (Trips, 1972) y son utilizados por las hembras de *Ae. aegypti* para ovopositar. La abundancia de lugares de cría podría aumentar la circulación y el intercambio genético y reducir la diferenciación genética.

Esto provocó que la deriva genética fuera más acentuada en las poblaciones rurales, haciendo perder los alelos poco frecuentes, y así con el tiempo deriva a una diferencia genética entre poblaciones de *Ae. aegypti* urbanos y rurales.

Whitlock y McCauley (1999) sostuvieron que el hecho de conocer que las poblaciones se encuentran o no en equilibrio genético se convierte en una pieza más de información para comprender su potencial evolutivo. Al igual el conocimiento del flujo génico, ya que este puede restringir la evolución impidiendo la adaptación a las condiciones locales o puede promover las adaptaciones locales haciéndolas evolucionar más fácilmente.

Asimismo, si el flujo génico entre poblaciones de una especie es alto, todas ellas evolucionan de manera conjunta (a menos que sea contrarrestado por selección o deriva génica), pero si es muy bajo, empiezan a divergir, lo que puede contribuir al aislamiento reproductivo y al establecimiento de linajes evolutivamente independientes (Slatkin, 1995).

6. Conclusión

En Bolivia se puede decir que morfológicamente existen poblaciones distintas de *Ae. aegypti* sin embargo, esta característica morfológica estaría estrechamente relacionada con el tipo de criadero, siendo este último el responsable de la activación o desactivación de fracciones del genoma del *Ae. aegypti*. Evidentemente la época del año también influiría en esta expresión del genoma.

Por consiguiente, si encontramos una población que presenta dominancia de un morfotipo, podremos determinar qué tipo de criadero es el responsable de la mayor producción de *Ae. aegypti* y proponer un mejor control para ese tipo de criadero. La dominancia de un morfotipo por tipo de criadero tendrá que ser más estudiada en investigaciones futuras.

Es evidente que hay poblaciones distintas a nivel genético entre regiones y a su vez, a nivel local entre áreas rurales y urbanas.

Tomando en cuenta que la población boliviana de *Ae. aegypti* es el resultado de numerosas invasiones de una misma población, se concluye que las barreras geográficas y la distancia con las que se dividen las regiones, provocó un bajo flujo genético entre ellas, dando lugar a la deriva genética y a la rápida adaptación, generando así la pérdida o delección de alelos dentro del genoma de la población regional formando paulatinamente poblaciones genéticamente diferenciadas.

Existe diferencias genética entre poblaciones rurales y urbanas por efecto de la dispersión baja que caracteriza a *Aedes aegypti* en áreas urbanas grandes que provoca un flujo genético bajo, dando lugar a la deriva genética y a la adaptación rápida de las poblaciones rurales.

Epidemiológicamente es importante detectar las diferencias genéticas entre poblaciones rurales y urbanas, ya que estas diferencias podrían derivar en comportamientos y ecologías distintas, implicando así planificaciones distintas para el control de las diferentes poblaciones

7. Recomendaciones

Al no encontrar una relación entre la distribución geográfica de *Aedes aegypti* con su morfotipo, se recomienda realizar un estudio de expresión fenotípica en relación al tipo de criaderos. Ya que estos datos servirían al control epidemiológico del Dengue puesto que develaría los criaderos de mayor producción de dichos mosquitos presentes en la ciudad.

La diferencia genética que presentó la población de *Ae. aegypti* en la región chaqueña propone realizar investigaciones de competencia vectorial y ecología, pues dichas diferencias genéticas muestran a una población singular en Bolivia, ya que están sometidas a presiones ambientales constantes, tales como el clima extremo (calor y frío) y una temporada seca y lluviosa bien marcadas.

Cabe recalcar apoyar y fomentar investigaciones de biología, ecología y etología en poblaciones de *Ae. aegypti*, ya que en Bolivia las investigaciones sobre vectores se han centrado en *Anopheles* como vector de Malaria o paludismo. Sin olvidar que en la investigación de los diferentes vectores transmisores de arbovirosis principalmente esta la respuesta para la prevención y el control de los mismos.

8. Bibliografía

- Aguilera L, González M, Marquetti MC, Capin JL, Fustes C. (2000). Incidencia de *Aedes* (S) *aegypti* y otros culícidos en Playa, Ciudad de la Habana. *Rev Cub Med Trop* ;52:174-9.
- Anónimo. (1986). Dengue hemorrhagic fever, diagnosis, treatment & control. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Ayres CFJ, Melo-Santos MAV, Solé-Cava AM, Furtado AF, (2003). Genetic differentiation of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), the major dengue vector in Brazil. *J Med Entomol* 40: 430–435.
- Bateman, A. J. (1947), "Contamination of seed corps". II. Wind pollination. *J. Genetics*. 48: 257-275.
- Bost, B.,C. Dillmann & D. de Vienne, (1999) Fluxes & metabolic pools as model traits for quantitative genetics. I. The L-shaped distribution of gene effects. *Genetics* 153: (2001)–2012.
- Bowcock, M, Ruiz-Llanares, A., Tomfohrde, J., Minch, E., Kidd, J.R., Y Cavalli- Sforza, L.L. (1994). Alta resolución de la evolución humana con los microsatélites polimórficos. *Naturaleza* 368:455 - 457.
- Bracco JE, Capurro ML, Lourenço-de-Oliveira R, Sallumam, (2007). Genetic variability of *Aedes aegypti* in the Americas using a mitochondrial gene: evidence of multiple introductions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102: 573–580.
- Bosio CF, Harrington LC, Jones JW, Sithiprasasna R, Norris DE, Scott TW, (2005). Genetic structure of *Aedes aegypti* populations in Thailand using mitochondrial DNA. *Am J Trop Med Hyg* 72: 434–442.
- Callen, D.F., Thompson, A.D., Shen, Y., Phillips, H.A., Richards, Mulley, J.C., Y Sutherl&, G.R. (1993). Incidencia y origen de alleles "nulos" en (CA) el marcador del microsatélite de n. . J. Ronquido. *Genet*. 52:922 - 927.
- Carey, D. E. (1971). Chikungunya & dengue: a case of mistaken identity? *J. Hist. Med. Allied Sci*. 26:243–262.

- Center for Disease Control, (1980). Bureau of Tropical Diseases. Vector Topics No. 4. Biología y control del *Aedes aegypti*. CDC, PHS, Atlanta Ga.
- Costa-da-Silva AL, Capurro ML, Bracco JE, (2005). Genetic lineages in the yellow fever mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) from Peru. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 539–544.
- Costa-Ribeiro MC, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux AB, (2006). Geographic & temporal genetic patterns of *Aedes aegypti* populations in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Med Int Health* 11:1276–1285.
- Chadee DD. (1988). L&ing periodicity of the mosquito *Aedes aegypti* in Trinidad in relation to the timing of insecticidal space – spraying. *Med Vet Entomol* ;25:189-92.
- Chakraborty, R. (1984). Detección de la asociación del número de alelos al azar de la distribución del número de lugares geométricos en una muestra heterocigota. *Genética* 108:719 - 731.
- Chapman RF. (1982). The insects: structure & function. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Cheng H. H. & CRITTENDEN, L.B. (1994). Microsatellite markers for genetic mapping in the chicken. *Poultry Sci.* 73:539-546.
- Chesser R. K. (1991) "Influence of Gene Flow & Breeding Tactics on Gene Diversity Within Populations", *Genetics.* 129: 573-583.
- Costa-Ribeiro MC, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux AB, (2006). Geographic & temporal genetic patterns of *Aedes aegypti* populations in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Med Int Health* 11:1276–1285.
- de Sousa G B, Avilés G, Gardenal CN (2000). Allozymic polymorphism in *Aedes aegypti* populations from Argentina. *J Am Mosq Control Assoc* 16: 206-209.
- Donnelly MJ, Simard F, Lehmann T (2002). Evolutionary studies of malaria vectors. *Trends Parasitol* 18: 75-80.

- Dutary BE, Rozette JE, Campos C. (1989). Situación actual del mosquito *Aedes aegypti* en el área metropolitana de la ciudad de Panamá. *Rev Med Panamá* ;14:67-78.
- Edwards, A., Hammond, H.A., Jin, L., Caskey, C.T., y Chakraborty, R. (1992). Variación genética a las cinco trimeric y lugares geométricos en tándem tetrameric de la repetición en cuatro grupos humanos de la población. *Genomics* 12:241 - 253.
- Ehrlich P. R. Raven, P. H. (1969). "differentiation of populations. *Science*. 165: 1228 – 1232.
- Failloux AB, Vazeille M, Rodhain F, (2002). Geographic genetic variation in populations of the dengue virus vector *Aedes aegypti*. *J Mol Evol* 55: 653–663.
- Fernández I. (1999). *Biología y control del Aedes aegypti*. Manual de operaciones. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Forattini OP. (2002). *Culicidología médica*. Universidad de Sao Paulo.;2:453-64.
- Focks DA, Sackett SR, Bailey DL. (1981). Observations on container-breeding mosquitoes in New Orleans, Louisiana, with an estimate of the population density of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* ;30:1329-35.
- Fraga EC, Santos JMM, Maia JF, (2003). Enzymatic variability in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Manaus- AM, Brazil. *Genet Mol Biol* 26: 181–187.
- Gorrochotegui-Escalante N, de Lourdes Munoz M, Fernández- Salas I, Beaty BJ, Black WC IV, (2000). Genetic isolation by distance among *Aedes aegypti* populations along the northeastern coast of Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 62: 200–209.
- Gorrochotegui-Escalante N, Gomez-Machorro C, Lozano-Fuentes S, Fernández-Salas I, Munoz ML, Farlan-Ale JA, Garcia-Rejon J, Beaty BJ, Black WC IV, (2002). Breeding structure of *Aedes aegypti* populations in Mexico varies by región. *Am J Trop Med Hyg* 66: 213–222.
- Gubler, D.J., & L. Rosen. (1976). A simple technique for demonstrating transmission of dengue viruses by mosquitoes without the use of vertebrate hosts. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25:146–150.

- Gubler, D. J., D. Reed, L. Rosen, & J. C. J. Hitchcock. (1978). Epidemiologic, clinical & virologic observations on dengue in the Kingdom of Tonga. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 27:581–589.
- Gubler, D. J., W. Suharyono, Sumarmo, H. Wulur, E. Jahja, & J. Sulianti Saroso. (1979). Virological surveillance for dengue haemorrhagic fever in Indonesia using the mosquito inoculation technique. *Bull. W. H. O.* 57:931–936.
- Gubler D, Rosen L, (1979). Variation in susceptibility to oral infection with dengue viruses among geographic strains of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 28: 1045–1052.
- Gubler, D. J., W. Suharyono, R. Tan, M. Abidin, & A. Sie. (1981). Viremia in patients with naturally acquired dengue infection. *Bull. W. H. O.* 59:623–630.
- Gubler, D. J., G. Kuno, G. E. Sather, M. Ve'lez, & A. Oliver. (1984). Use of mosquito cell cultures & specific monoclonal antibodies for routine surveillance of dengue viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 33:158–165.
- Gubler, D. J., G. Kuno, G. E. Sather, & S. H. Waterman. (1985). A case of natural concurrent human infection with two dengue viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 34:170–173.
- Gubler, D. J., G. E. Sather, G. Kuno, & J. R. Cabral. (1986). Dengue 3 virus transmission in Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35:1280–1284.
- Gubler, D. J. (1987). Dengue & dengue hemorrhagic fever in the Americas. *P. R. Health Sci. J.* 6:107–111.
- Gubler, D. J. (1988). Dengue, p. 223–260. *In* T. P. Monath (ed.), *Epidemiology of arthropod-borne viral diseases*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Gubler, D. J., & G. E. Sather. (1988). Laboratory diagnosis of dengue & dengue hemorrhagic fever, p. 291–322. *In* A. Homma & J. F. Cunha (ed.), *Proceedings of the International Symposium on Yellow Fever & Dengue*.
- Gubler, D. J. (1989). *Aedes aegypti* & *Aedes aegypti*-borne disease control in the (1990)s: top down or bottom up. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 40:571–578.

- Gubler, D. J., & A. Casta-Velez. (1991). A program for prevention & control of epidemic dengue & dengue hemorrhagic fever in Puerto Rico & the U.S. Virgin Isl&s. *Bull. Pan Am. Health Org.* 25:237–247.
- Gubler, D. J. (1993). Dengue & dengue hemorrhagic fever in the Americas, p. 9–22. *In* P. Thoncharoen (ed.), *Monograph on dengue/dengue hemorrhagic fever*. W.H.O. regional publication SEARO no. 22. World Health Organization, New Delhi, India.
- Gubler, D. J., & D. W. Trent. (1994). Emergence of epidemic dengue/ dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infect. Agents Dis.* 2:383–393.
- Gubler, D. J., & G. G. Clark. (1995). Dengue/dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem. *Emerg. Infect. Dis.* 1:55–57.
- Gubler, D. J. (1996). Arboviruses as imported disease agents: the need for increased awareness. *Arch. Virol.* 11:21–32.
- Gubler, D.J. (1996). Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a global public health problem. *In: International Seminar on Dengue 1, Rio de Janeiro. Summaries.* p.13.
- Gubler, D. J. (1997). Dengue & dengue hemorrhagic fever: its history & resurgence as a global public health problem, p. 1–22. *In* D. J. Gubler & G. Kuno (ed.), *Dengue & dengue hemorrhagic fever*. CAB International, London, United Kingdom.
- Gubler DJ, Kuno GK. (1997). *Dengue & dengue hemorrhagic fever*. CAB International, New York, NY,
- Gubler, D. J. (1997). Dengue & dengue hemorrhagic fever: its history & resurgence as a global public health problem, p. 1–22. *In* D. J. Gubler & G. Kuno (ed.), *Dengue & dengue hemorrhagic fever*. CAB International, London, United Kingdom.
- Gubler, D. J. (1988). Dengue, p. 223–260. *In* T. P. Monath (ed.), *Epidemiology of arthropod-borne viral diseases*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Gubler DJ, (1998). Dengue & dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 11: 480–496.

Gubler, D. J. The global pandemic of dengue/dengue haemorrhagic fever: current status & prospects for the future. *Ann. Acad. Med. Singapore*, in press.

Gubler, D. J. Unpublished data.

Guzmán MG, Kouri G, Bravo JR. (1999). La emergencia de la fiebre hemorrágica del dengue en las Américas. Reemergencia del dengue. *Rev Cubana Med Trop*; 51:5-13.

Halstead, S. B. (1980). Dengue hemorrhagic fever—public health problema & a field for research. *Bull. W. H. O.* 58:1–21.

Halstead, S. B. (1992). The XXth century dengue pandemic: need for surveillance & research. *Rapp. Trimest. Stat. Sanit. Mond.* 45:292–298.

Harwood RF, James MT. (1987). *Entomología Médica y Veterinaria*, Ed. Limusa, México, DF.

Hartberg, W.K. (1969). Genetical assessment of taxonomic characters of *Aedes aegypti* (L) in Tanzania. WHO/VBC/69.152. Mimeographed document, World Health Organization, Geneva.

Hartberg, W.K., C.K. Meeks & K.R. Williams. (1986). A model for polygenic inheritance of abdominal tergal scale pattern in *Aedes aegypti*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2:490-502.

Herrera F, Urdaneta L, Rivero J, Zoghbi N, Ruiz J, Carrasquel G, Martínez JA, Pernalette M, Villegas P, Montoya A, Rubio-Pais Y, Rojas E, (2006). Population genetic structure of the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 625–633.

Hirsch, A. (1883). Dengue, a comparatively new disease: its symptoms, p. 55 – 81. *In* *Handbook of geographical & historical pathology*, vol. 1. Sydenham Society, London, United Kingdom.

Howe, G. M. (1977). *A world geography of human diseases*. Academic Press, Inc., New York, N.Y.

Huber K, Le Loan L, Hoang TH, Ravel S, Rodhain F, Failloux AB, (2002). Genetic differentiation of the dengue vector, *Aedes aegypti* (Ho Chi Minh City, Vietnam) using microsatellite markers. *Mol Ecol* 11: 1629–1635.

- Knudsen A.B. (1991). *Aedes aegypti* infestation characteristics in several Caribbean countries & implications for integrated community-based control. *J Am Mosq Control Assoc* ;7:400-4.
- Lanciotti, R.S. (1996). Molecular evolution & phylogeny of the four serotypes of dengue viruses. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON DENGUE, 1., Rio de Janeiro, Summaries. p. 15.
- Latta, R. G., (1998) Differentiation of allelic frequencies at quantitative trait loci affecting locally adaptive traits. *Am. Nat.* 151: 283–292.
- Le Corre V., Kremer A.. (2003). Genetic Variability at Neutral Markers, Quantitative Trait Loci & Trait in a Subdivided Population Under Selection *Genetics Society of America Genetics*, Vol. 164, 1205-1219.
- Levin, D.A. (1981). Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of Missouri Botanical Garden* 68:233-253.
- Lima JB, Da-Cunha MP, Da Silva RC, Galardo AK, Soares Sda S, Braga IA. *et. al.* (2003). Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the State of Rio de Janeiro & Espirito Santo, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* ;68:329- 33.
- Marquetti MC, Valdés V, Aguilera L, Navarro A. (2000). Vigilancia entomológica de *Aedes (S) aegypti* y otros culícidos en Ciudad de la Habana, Cuba (1991)-(1996). *Rev Cub Med Trop*;52:133-7.
- Mattingly, P. F. (1957) *Ann. trop. Med. Parasit.*, -5 1, 392
- Mattingly, P. F. (1965) The culicine mosquitos of the Indomalayan área, Part 6, London, The British Museum(Natural History) p. 23
- Mayr, e. 1963. "Animal Species & Evolution". Cambridge, Mass: Harvard Univ. Press.
- McCauley DE (1991) Genetic consequences of local population extinction & recolonization. *Trends in Ecology and Evolution*, 6, 5–8.
- McClell&, G. A. H. 1960. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 54, 305

- McClellan G.A.H. (1971). Variation in scale pattern of the abdominal tergum of *Aedes aegypti* (L.). Worldwide survey of populations with particular reference to East Africa. WHO/VBC/71.271.
- McSherry, J. A. (1982). Some medical aspects of the Darien schema: was it dengue? Scot. Med. J. 27:183–184.
- Moazami-Goudarzi, K., D. Laloë, J.P. Furel & F. Grosclaude. (1997). Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics*, 28: 338 - 345.
- Monath, T. P. (1994). Dengue: the risk to developed & developing countries. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:2395–2400.
- Morens, D. M., C. N. Venkateshan, & S. B. Halstead. (1987). Dengue 4 virus monoclonal antibodies identify epitopes that mediate immune enhancement of dengue 2 viruses. *J. Gen. Virol.* 68:91–98.
- Morlais I, Severson DW, (2002). Complete mitochondrial DNA sequence & amino acid analysis of the cytochrome c oxidase I (COI) from *Aedes aegypti*. *DNA Seq* 13: 123–127.
- Mousson L, Dauga C, Garrigues T, Schaffner F, Vazeille M, Failloux AB, (2005). Phylogeography of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) & *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations. *Genet Res* 86: 1–11.
- Navarro, G; M Maldonado. (2002). *Geografía Ecológica de Bolivia. Vegetación y Ambientes Acuáticos*. Ed. Centro de Ecología Simón I. Patiño. Cochabamba, Bolivia. 719 pp.
- Nei, M. (1972). Genetic distances between populations. *Am. Nat.* 106, pp. 283-292.
- Newton, E. A. C., & P. Rieter. (1992). A model of the transmission of dengue fever with an evolution of the impact of ultra-low volume (ULV) insecticide application on dengue epidemics. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 47: 709–720.
- Nobuchi, H. (1979). The symptoms of a dengue-like illness recorded in a Chinese medical encyclopedia. *Kanpo Rinsho* 26:422–425. (In Japanese.)

Nogueira, R.M.; Miagostovich, M.P.; Lampe, E. & Schatzmayr, H.G. (1990). Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 85: 253.

Organización Panamericana de la Salud. Dengue y dengue hemorrágico en las Américas: Guía para su control. Washington DC: OPS; (1995). Publicación científica N°. 548.

Paduan KS, Araújo-Júnior JP, Ribolla PEM, (2006). Genetic variability in geographical populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Brazil elucidated by molecular markers. *Genet Mol Biol* 29: 391–395. Paupy C, Chantha N, Reynes JM, Failloux AB, (2005). Factors influencing the population structure of *Aedes aegypti* from the main cities in Cambodia. *Heredity* 95: 144–147.

Paetkau, D. y Strobeck, C. (1995). La base molecular y la historia evolutiva de un allele de la falta de información del microsatélite en osos. *Mol. Ecol.* 4:519 - 520.

Paupy C, Chantha N, Reynes JM, Failloux AB, (2003). Variation over space & time of *Aedes aegypti* in Phnom Penh (Cambodia): genetic structure & oral susceptibility to a dengue virus. *Genet Res* (in press).

Paupy C, Chantha N, Reynes JM, Failloux AB, (2005). Factors influencing the population structure of *Aedes aegypti* from the main cities in Cambodia. *Heredity* 95: 144–147.

Pemberton, J.M., Pizarra, J., Bancroft, D.R., y Barrett, J.A. (1995). Alleles de Nonamplifying en los lugares geométricos del microsatélite: una precaución para los estudios de la familia y de la población. *Mol. Ecol.* 4:249 - 252.

Pepper, O. H. P. (1941). A note on David Blyon & dengue. *Ann. Med. Hist.* 3rd Ser. 3:363–368.

Peredo C., Garrón T., Pelegrino J. L., Harris E. & Gianella A. (1999). Detection & identification of dengue-2 virus from Santa Cruz-Bolivia by a single tube rt-pcr method. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 41 (3): P 207-208.

Pérez O. (2004). Manual de Indicaciones técnicas para insectarios. Editorial Ciencias Médicas, Ciudad de la Habana. p.16-53.

Pinheiro, F. P. (1989). Dengue in the Americas, (1980)–(1987). *Epidemiol. Bull.* 10:1.

- Pinheiro, F. P., & S. J. Corber. (1997). Global situation of dengue & dengue haemorrhagic fever, & its emergence in the Americas. *World Health Stat. Q.* 50:161–169.
- Ponsuksili, S., K. Wimmers, F. Schmoll, P. Horst y K. Schell&er. (1999). Comparison of multilocus DNA fingerprints & microsatellites in an estimate of genetic distance in Chicken. *The Journal of Heredity.* 90: 656-659.
- Powell JR, Tabachnick WJ, Arnold J, (1980). Genetics & the origin of a vector population: *Aedes aegypti*, a case study. *Science* 208: 1385–1387.
- Raymond M. & Rousset F, (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests & ecumenicism. *J. Heredity*, 86:248-249.
- Reiter, P., & D. J. Gubler. (1997). Surveillance & control of urban dengue vectors, p. 425–462. *In* D. J. Gubler & G. Kuno (ed.), *Dengue & dengue hemorrhagic fever*. CAB International, London, United Kingdom.
- Reiter P, Manuel AA, &erson RA. (1995). Short report: dispersal of *Aedes aegypti* in urban área after blood feeding as demonstrated by Rubidium – marked eggs. *Am J Trop Med Hyg* ;52:177-9.
- Riesberg, L.H. y J.M. Burke. (2001). The biological reality of species: gene flow, selection & collective evolution. *Taxon* 50:235-255.
- Rigau-Pe´rez, J. G., D. J. Gubler, A. V. Vorndam, & G. G. Clark. (1994). Dengue surveillance—United States, (1986)–(1992). *Morbid. Mortal. Weekly Rep.* 43(SS-2):7–19.
- Rochambeau, H., F. Fournet-Hanocq y J. Vu Tien Khang. (2000). Measuring & managing genetic variability in small populations. *Ann. Zootech.* 49: 77-93.
- Rodier, G., D. J. Gubler, S. E. Cope, R. Bercion, C. B. Cropp, A. K. Soliman, J. Bouloumie, J.-J. Piccolo, D. Polycarpe, J. A. Abdourhaman, P. Delmaire, J.-P. Bonnet, J.-P. Parra, G. G. Gray, & D. J. Fryauff. (1995). Epidemic dengue 2 in the city of Djibouti, Horn of Africa, (1991)–(1992). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 90:237–240.
- Rosen, L. (1982). Dengue—an overview, p. 484–493. *In* J. S. Mackenzie (ed.), *Viral diseases in Southeast Asia & the Western Pacific*. Academic Press, Ltd., Sydney, Australia.

- Rush, A. B. (1789). An account of the bilious remitting fever, as it appeared in Philadelphia in the summer & autumn of the year 1780. Medical enquiries & observations, p. 104–117. Prichard & Hall, Philadelphia, Pa.
- Scarpassa V. Bacry T. & Cardoso R. J., (2008). Population Genetics & Phylogeography of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 78(6), pp. 895–903.
- Scott T.W, Chow E, Strickman D, Kittayapong P, Wirzt RA, Lorenz LH. (1993). Blood – feeding pattern of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) collected in rural Thai villages. *J Med Entomol* ;30:922-7.
- Senevet, G. & Marelli (1961) Arch. Inst. Pasteur Alger., -3 9, 100.
- Service MW. (1993). Mosquito Ecology. Field sampling methods Elsevier Science Publishers Ltd. Essex, UK. 2nd Edition.
- Slatkin M (1985)a Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39, 53–65.
- Slatkin M (1985)b Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 393–430.
- Slatkin M, (1991). Inbreeding coefficients & coalescence times. *Genet Res* 58: 167–175.
- Slatkin, M. (1995). Una medida de la subdivisión de la población basada en frecuencias del allele del microsatélite. *Genética* 139:457 - 462.
- Stanley, S. M. (1979). Macroevolution: “Pattern & process”. San Francisco: Freeman.
- Tabashnik WJ. (1991). Evolutionary genetics & arthropod borne disease: the yellow fever mosquito. *Ann Rev Entomol* ;37:14-24.
- Takezaki, N. & Nei, M. (1996). Genetic distance & reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA. *Genetics*, 144, 389-399.
- Tardieux I, Poupel O, Lapchin L, Rodhain F, (1990). Variation among strains of *Aedes aegypti* in susceptibility to oral infection with dengue virus type 2. *Am J Trop Med Hyg* 43: 308–313.

- Tassniyom S, Vasanawathana S, Chirawatkul A, Rojanasuphot S, (1993). Failure of high-dose methylprednisolone in established dengue shock syndrome: a placebo-controlled, double-blind study. *Pediatrics* 92: 111–115.
- Tauil PL. Urbanização e ecologia do dengue. *Cad Saude Pública*. (2001); 17(supl 1): 99-102.
- Tinker M, Olano VA. (1993). Ecología del *Aedes aegypti* en un pueblo de Colombia, Sur América. *Biomed* ;13:5-14.
- Trpis M (1972). Seasonal changes in the larval populations of *Aedes aegypti* in two biotopes in Dar es Salaam, Tanzania. *Bull WHO* 47: 245–255
- Vera M. Tatiana B, y Rubens P. Cardoso J. (2008). Population Genetics & Phylogeography of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Brazil *Am J Trop Med Hyg*; 78: 895-903.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 395-420.
- Weir B.S. y Cockerham, C.C. (1984). Estimar la F-estadística para el análisis de la estructura de la población. *Evolución* 38:1358 - 1370.
- Westaway, E. G., & J. Blok. (1997). Taxonomy & evolutionary relationships of flaviviruses, p. 147–173. *In* D. J. Gubler & G. Kuno (ed.), *Dengue & dengue hemorrhagic fever*. CAB International, London, United Kingdom.
- Williams NM, Jones LA, Murphy KC, Cardno AG, Asherson P, Williams J, McGuffin P, Owen MJ. (1997). No evidence for an allelic association between schizophrenia & markers D22S278 & D22S283. *Am J Med Genet* 74:37±39.
- Whitlock, M.C. y D.E. McCauley. (1999). Indirect measures of gene flow & migration: F_{ST} not equal to $1/(4Nm + 1)$. *Heredity* 82:117-25.
- Wright, S. (1965). Interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. *Evolution*, 19, 395-420.
- Yan GBM, Christensen BM, Severson DW. (1997). Comparison of genetic variability & genome structure among mosquito strains selected for refractoriness to a malaria parasite. *J Hered*

;88:187-94.

Yan G, Romero-Severson J, Walton M, Chadee DD, Severson DW (1999). Population genetics of the yellow fever mosquito in Trinidad: comparisons of amplified fragment length polymorphism (AFLP) & restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Mol Ecol* 8: 951-963.

Zuñiga, Boris en (2006). Determinación de la variabilidad genética de *Populus nigra* var. *italica* mediante electroforesis en geles de almidón.

ANEXO 1

ZONA URBANAS

SANTA CRUZ DE LA SIERRA



YACUIBA



Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano

CARANAVI



ZONAS RURALES

LA GUARDIA



SOMBRERITO



CAIZA



PALMAR



BARRIAL



SANTA FE



ALCOCHE



ANEXO 2

ENCUESTA ENTOMOLOGICA HOJA 1

Localidad | _____ | Num UI | _____ |
 1. Ciudad 2. Pueblo 3. Hacienda 4. Campo Código Vi | _____ |
 Calle | _____ | Num de Vivienda | _____ |
 Fecha | _____ | Hora | _____ |

Barrio | _____ | LIV | _____ | Manzano | _____ |
 GPS Código del punto GPS | _____ | S | _____ | ° | _____ |
 Coordenadas del GPS O | _____ | ° | _____ |
 Temperatura Ambiente | _____ | Lluvia | _____ |
 Velocidad del Viento | _____ | Km/h Dirección del viento | _____ |
 Humedad | _____ | Humedad relativa | _____ |

Predio: 0. Sin Habitaciones 1. Con Habitaciones | _____ |
 Tipo de Predio:
 1. Vivienda 5. Lavandería de Automóviles
 2. Llantería 6. Tienda comercial
 3. Taller mecánico 7. Terreno baldío
 4. Carpintería 8. Cementerio 9. Otro

Tipo de material de construcción:
 1. Madera 2. Ladrillo 3. Barro

Tipo de material del techo:
 1. Teja 2. Calamina 3. Vaciado
 4. Jatata 5. Fibrocemento 6. Otro

Vegetación del predio:
 0. Sin 1a. Densa | _____ | mt. de altura
 1. Con 1b. Escasa | _____ | mt. de altura

Consumo de agua:
 1. Cañería 2. Pozo o noria 3. Río

Habitantes del predio: | _____ | Empleados de 8 am a 18 pm | _____ |
 Cuantos adultos (> 15 años) | _____ | Cuantos menores (< 15 años) | _____ |

Insecticidas: 0. No
 1. Si 1a. Particulares 2a. SEDES

SEDES: 1. Pulverización Cuantos meses atrás | _____ |
 2. Abatización Cuantos meses atrás | _____ |

Casos de Dengue (o Mayaro)
 0. No 1. S Cuantos casos | _____ | Fecha | _____ |

Chaderos con agua :
 0. Sin Foco 1. Con Foco de *Ae. aegypti* 2. Con Foco de Culicidae
 3. Con Foco de *Ae. aegypti* + otros Culicidae

ENCUESTA ENTOMOLOGICA HOJA 2

N°	1		2		3	
	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Foco con larvas						
Descripción						
Localización	1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda	
Volumen de agua (litros)						
Temperatura						
pH						
Agua del criadero	1 Clara 2 Turbia 3 Negra 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negra 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negra 4 Fangosa	
Residuos vegetales	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Exposición	1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total	
Tipo de sombra	1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada	
Especies						

N°	4		5		6	
	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Foco con larvas						
Descripción						
Localización	1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda	
Volumen de agua (litros)						
Temperatura						
pH						
Agua de criadero	1 Clara 2 Turbia 3 Negra 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negra 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negra 4 Fangosa	
Residuos vegetales	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Exposición	1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total	
Tipo de sombra	1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada	
Especies						

ENCUESTA ENTOMOLÓGICA HOJA 3

N°	7		8		9	
	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Foco con larvas						
Descripción						
Localización	1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda	
Volumen de agua (litros)						
Temperatura						
pH						
Agua de criadero	1 Clara 2 Turbia 3 Negro 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negro 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negro 4 Fangosa	
Residuos vegetales	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Exposición	1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total	
Tipo de sombra	1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada	
Especies						

N°	10		11		12	
	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Foco con larvas						
Descripción						
Localización	1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda		1 Dentro de la casa 2a. Dentro del jardín 2b. Terraza galería 3 Fuera de la vivienda	
Volumen de agua (litros)						
Temperatura						
pH						
Agua de criadero	1 Clara 2 Turbia 3 Negro 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negro 4 Fangosa		1 Clara 2 Turbia 3 Negro 4 Fangosa	
Residuos vegetales	0 No	1 Si	0 No	1 Si	0 No	1 Si
Exposición	1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total		1 Luz total 2 Sombra parcial 3 Sombra total	
Tipo de sombra	1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada		1 Techo 2 Follaje 3 Sombra proyectada	
Especies						

ENCUESTA ENTOMOLÓGICA HOJA 4

Laboratorio Conteo de las larvas y de las pupas de *Aedes aegypti*

	L1	L2	L3	L4	Pupas	Otras especies de culicidae
C1						
C2						
C3						
C4						
C5						
C6						
C7						
C8						
C9						
C10						
C11						
C12						
C13						
C14						
C15						
C16						
C17						
C18						
C19						
C20						
Total						

Conteo de los adultos de *Aedes aegypti*

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Machos										
Hembras										
Total										

	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19	C20
Machos										
Hembras										
Total										

Observaciones :

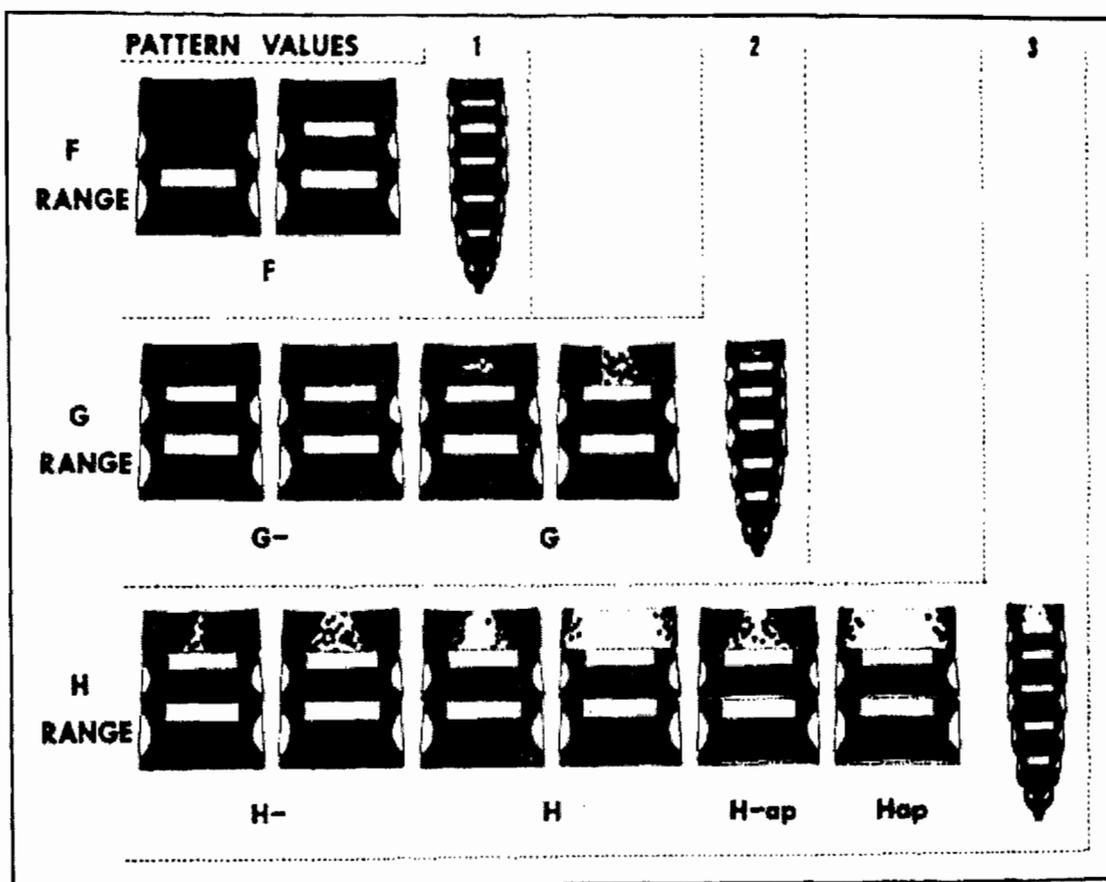
ANEXO 3

MATRIZ DE VALORES POR GRADO PATRÓN DE TERGITOS ABDOMINALES.

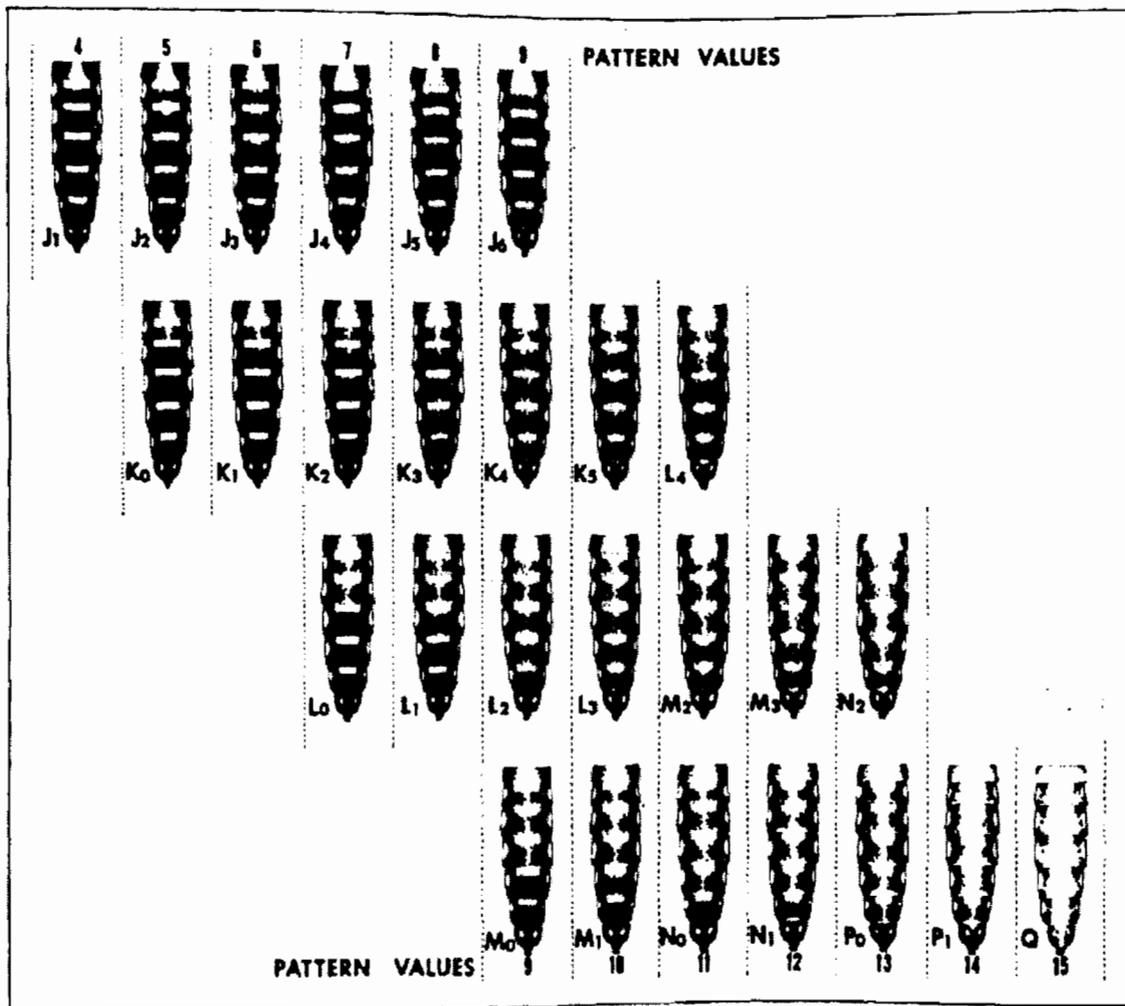
	Add score to base of one	Number of tergites brindled scores 1 x						
		0	1	2	3	4	5	6
Number of tergites medially pale scores 2 x	0	F 1 ^a	G 2					
	1	H 3	J1 4	J2 5	J3 6	J4 7	J5 8	J6 9
	2	K0 5	K1 6	K2 7	K3 8	K4 9	K5 10	
	3	L0 7	L1 8	L2 9	L3 10	L4 11		
	4	M0 9	M1 10	M2 11	M3 12			
	5	N0 11	N1 12	N2 13				
	6	P0 13	P1 14					
	7	Q 15						

^a The figures at the bottom of each square are "colour values". These scores are obtained by adding twice the number of medially pale tergites and the number of remaining tergites that are brindled to a base of 1.

PATRÓN DE GRADOS Y PATRÓN DE VALORES ARBITRARIOS CORRESPONDIENTE A LA SUB ESPECIE *FORMOSUS* Y AL MORFOTIPO DE *Ae. aegypti*.



PATRÓN DE GRADOS Y PATRÓN DE VALORES ARBITRARIOS CORRESPONDIENTE A LA VAR. *QUEENSLANDENSIS* DE *Ae. aegypti*.



ANEXOS 4

Extracción de ADN al CTAB, sobre mosquito entero,

- 1- Triturar cada mosquito en 200 μ l de CTAB 2%
- 2- Poner a la Baño-Maria 65° durante 5 minutos
- 3- Añadir 200 μ l de cloroformo-Mezclar por inversión.
- 4- Centrifugar 5 minutos a 12 000 rpm, a Temperatura ambiente (TA),
- 5- Sacar la fase superior y poner el sobrenadante en un tubo nuevo.
- 6- Añadir 200 μ l de Isopropanol sobre éste sobrenadante, mezclar bien por inversión
- 7- Centrifugar 15 minutos a 12 000 rpm a TA
- 8- Vaciar el Isopropanol, escurrir bien y añadir 200 μ l de etanol 70%
- 9- Centrifugar 5 minutos, 12 000 a TA,
- 10- Vaciar el etanol
- 11- Secar el culote 5 minutos máximo al speed-vac
- 12- Recoger en 20 μ l de H₂O- **NO VORTEXER** -Dejar suspender sobre el escurridero toda la noche (o un 1/2 día)

CTAB 2%

Reactivo	Volumen	Conc. final
1 M Tris HCl pH 8.0	100 ml	100 mM
0.5 M EDTA	20 ml	10 mM
NaCl	81.8 g	1.4 M
CTAB *	20 g	2%
ddH ₂ O	QSP 1 L	

* Cetyl trimethyl amonio bromide

Mezclar con agitador magnético.

Conservar a TA.

ANEXOS 5

TABLA DE LOCUS

Locus	Microsatellite	Principio (5'-----3')	Ta °C	Tamaño del fragmento amplificado (bp)
34/72	GAAAA(GA) ⁶ CAGACAGGAAA	DIR FAM CGT AGT GAT TCT GTGATA TGG REV CAT CAG ATT CAG TAA	50	91
38/38	GCT(GTT) ² GCTGTT(GCT) ³ (GTT) ³ GCT	DIR VIC OGG TGG ACG AAT CAT REV GAT GCG GCG TAG TCC AAT	56	85
T3A7	(TTTA) ⁷ (T) ¹⁴	DIR FAM CGA CAG ATG GTT ACG GAC GG GTC REV CCG CTC CAA AAA TGC CC	64	228
AED19	GGAC(GGA) ⁵	DIR FAM GTA TGA CAA CTC TGG AAT GG TTA REV TGG AACTGG TAA GCC CAGC	56	174
AEDGA	(GAA) ³ (GAC) ⁴ (GAA) ³	DIR VIC CCG AAG AAA TTG GGG TGA CC REV OCT CTC GGT GTT CGC TAA CC	55	145
A10	(CT) ³ CGAT(CT) ¹⁰ TT(CT)	DIR PET ATC CCG AAA ACA AAT CGT GA ATC REV GAA CAT CGC TTC CAA CT	58	207
AEDC	(GTA) ⁶ ACG(GTA) ³	DIR FAM TGC AGG CCC AGA TGC ACA GCC REV TCC GCT GCC GTT GGC GTG AAC	58	220
H08	(TOG) ⁷	DIR NED AAA AAC CAC GAT CAC OGA AG REV ACG OGA TCA CAC ACT GAA AAT G	60	201
M313	(ATG) ⁵ ATAATG	DIR PET CAC CTC GTG ACA TAC AAA CAC C REV ACG TAC CCA AGC CAC GTA CA	60	121

Guía de Lab. para el uso Microsatélites en *Aedes aegypti*

Paso 1

Dilución del DNA extraído con CTAB a 1/5 es decir 6 µl de DNA + 24 µl de H₂O.

Paso 2

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite **38/38**.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 96 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	2 mM	0,5 µl	48 µl
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0,5 µl	48 µl
primer 38/38 f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer 38/38 r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	16,9 µl	1670.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite **M313**.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM	-	-
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0,5 µl	48 µl
primer M313 f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer M313 r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	17,4 µl	1718.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite **Aed19**.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	2 mM	0,5 µl	48 µl
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0,5 µl	48 µl
primer Aed19 f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer Aed19 r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	16,9 µl	1670.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite AedC.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	2 mM	0,5 µl	48 µl
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0,5 µl	48 µl
primer AedC f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer AedC r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	16,9 µl	1670.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite H08.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM	-	-
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0,5 µl	48 µl
primer H08 f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer H08 r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	17,4 µl	1718.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite 34/72.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	2 mM	0,5 µl	48 µl
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0,5 µl	48 µl
primer 34/72 f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer 34/72 r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	16,9 µl	1670.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite AedGA.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	2 mM	0,5 µl	48 µl
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0,5 µl	48 µl
primer AedGA f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer AedGA r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	16,9 µl	1670.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite A10.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM	-	-
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0.5 µl	48 µl
primer A10 f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer A10 r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	17,4 µl	1718.4 µl

Preparación del Master-Mix para el PCR con Microsatélite T3A7.

Reactivo	Con. inicial	Con. Final	µl / Tubo	µl / 90 tubos
Buffer PCR	10X	1X	2,5 µl	240 µl
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM	-	-
dNTPs	10 mM/bN	0,2 mM/bN	0.5 µl	48 µl
primer T3A7 f	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
primer T3A7 r	100 pmol/µl	10 pmol/µl	1 µl	96 µl
Enzima Taq Pol.	5 u/µl	0,5 u/µl	0,1 µl	9.6 µl
H ₂ O	-	QSP 23 µl/tubo	17,4 µl	1718.4 µl

Paso 3

Para el último paso antes de empezar el PCR se deposita en las placas de 96 pocillos (siguiendo algún tipo de orden) 23 ml de master mix + 2 ml de DNA diluido (1/5), por último se sella la placa y se da inicio al trabajo de amplificación. Cabe recalcar que todos los pasos para la preparación del Master Mix siguen el siguiente orden y sobre hielo.

- 1° H₂O
- 2° Buffer PCR
- 3° MgCl₂ (si es necesario)
- 4° dNTPs
- 5° Primer f y r
- 6° Taq polimerasa

Después de haber lo vertido en los pocillos y con mucha rapidez y concentración se adiciona el DNA.

Condiciones de PCR para el marcador 38/38.

96° C	2 min	X 5 ciclos
56° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
95° C	30 seg	X 35 ciclos
56° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
72° C	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **M313**

94° C	5 min	X 35 ciclos
94° C	30 seg	
60° C	30 seg	
72° C	30 seg	
72° C	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **Aed19**

96° C	2 min	X 5 ciclos
56° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
95° C	30 seg	X 35 ciclos
56° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
72° C	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **AedC**

96° C	2 min	X 5 ciclos
58° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
95° C	30 seg	X 35 ciclos
58° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
72° C	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **H08**

94° C	5 min	X 35 ciclos
94° C	30 seg	
60° C	30 seg	
72° C	30 seg	
72° C	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **34/72**

96° C	2 min	X 5 ciclos
50° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
95° C	30 seg	X 35 ciclos
50° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
72° C	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **AedGA**

96° C	2 min	X 5 ciclos
55° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
95° C	30 seg	X 35 ciclos
55° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
72° C	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **A10**

94°	5 min	X 35 ciclos
94°	30 seg	
58° C	30 seg	
72°	30 seg	
72°	30 min	
4° C	∞	

Condiciones de PCR para el marcador **T3A7**

96° C	2 min	X 5 ciclos
64° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
95° C	30 seg	X 35 ciclos
64° C	30 seg	
72° C	1:15 min	
72° C	30 min	
4° C	∞	

ANEXO 6

POOL DE TRANSPORTE DEL DNA

Grupo Pool 1

Primers	Marca	Color	T° Annealing	MgCl2	Pool	Cantidad PCR	H2O	Tamaño
34/72	FAM	azul	50° C	2 mM	1	2 µl	50 µl	90
AedGA	VIC	verde	55° C	2 mM	1	1 µl		145
A10	PET	rojo	58° C	1,5 mM	1	4 µl		207
T3A7	FAM	azul	64° C	1,5 mM	1	3 µl		228

Grupo Pool 2

Primers	Marca	Color	T° Annealing	MgCl2	Pool	Cantidad PCR	H2O	Tamaño
38/38	VIC	verde	56° C	2 mM	2	2 µl	46 µl	85
M313	PET	rojo	60° C	1,5 mM	2	4 µl		121
Aed19	FAM	azul	56° C	2 mM	2	2 µl		174
H08	NED	amarillo	60° C	1,5 mM	2	2 µl		201
AedC	FAM	azul	58° C	2 mM	2	4 µl		220

Pool de transporte 1

Primers	Marca	Color	T° Annealing	MgCl2	Pool	Cantidad PCR	H2O	Tamaño
34/72	FAM	azul	50° C	2 mM	1	6 µl	30 µl	90
AedGA	VIC	verde	55° C	2 mM	1	3 µl		145
A10	PET	rojo	58° C	1,5 mM	1	12 µl		207
T3A7	FAM	azul	64° C	1,5 mM	1	9 µl		228

Pool detransporte 2

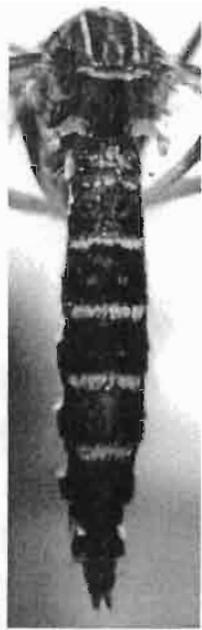
Primers	Marca	Color	T° Annealing	MgCl2	Pool	Cantidad PCR	H2O	Tamaño
38/38	VIC	verde	56° C	2 mM	2	6 µl	18 µl	85
M313	PET	rojo	60° C	1,5 mM	2	12 µl		121
Aed19	FAM	azul	56° C	2 mM	2	6 µl		174
H08	NED	amarillo	60° C	1,5 mM	2	6 µl		201
AedC	FAM	azul	58° C	2 mM	2	12 µl		220

ANEXO 7

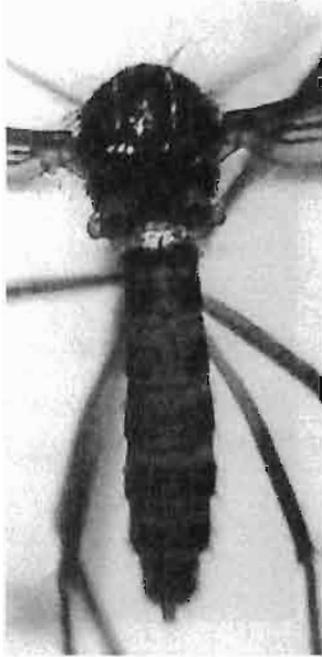
MORFOTIPOS DE *Aedes aegypti* PRESENTES EN BOLIVIA.



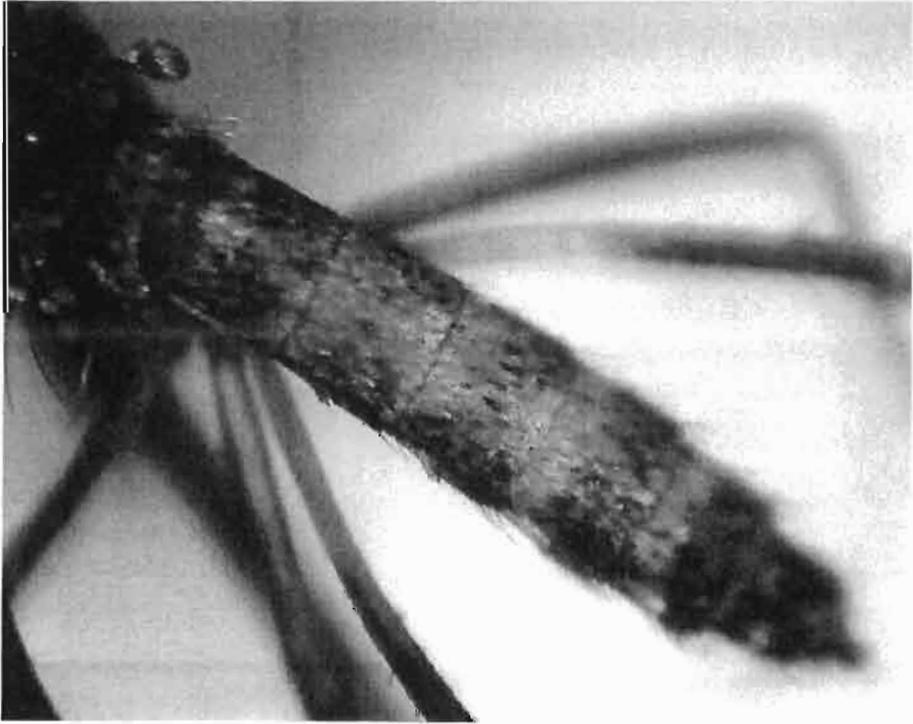
Morfo G



Morfo H

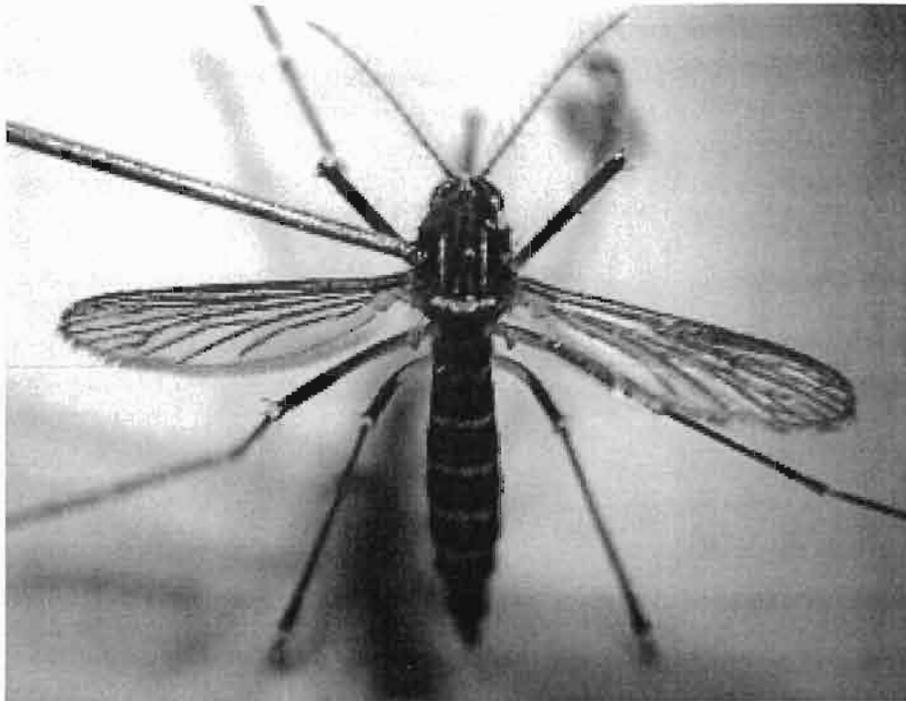


Morfo Q



Aedes aegypti aegypti var. *queenslandensis*

Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano

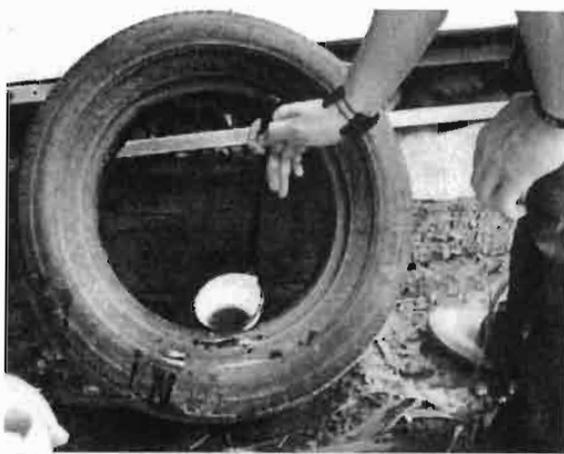


Aedes aegypti formosus

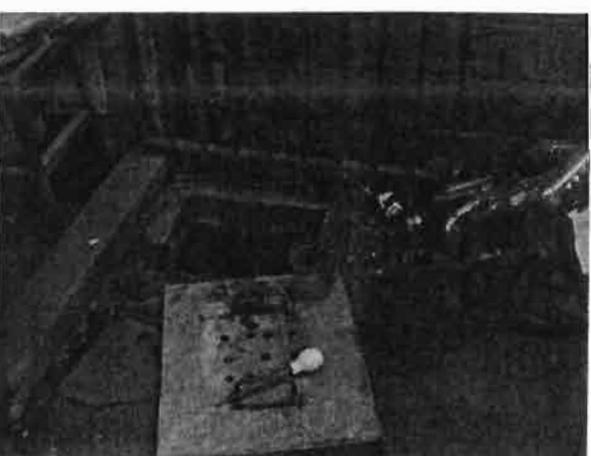
CRIADEROS AVITUALES TANTO EN ZONAS URBANAS Y RURALES



Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano



Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano



Caracterización morfológica y genética de poblaciones urbanas y rurales de *Aedes (Stegomyia) aegypti* L. (Diptera -Culicidae) ubicadas en localidades endémicas de Bolivia. Norman G. Valdez Zamorano

